

UNIVERSITÉ DE PARIS

ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE

Année 1918-1919.

N° 3.

Étude sur la teneur alcaloïdique
DE LA
BELLADONE CULTIVÉE

THÈSE

Pour l'obtention du diplôme de Docteur de l'Université de Paris

(PHARMACIE)

Présentée et soutenue le 10 Juillet 1919.

PAR

BEAUSITE, FRÉDÉRIC

Pharmacien de 1^{re} classe
de l'École supérieure de Paris.

JURY { MM. PERROT, Président.
DELEPINE, Professeur.
GORIS, Agrégé.

LONS-LE-SAUNIER

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE LUCIEN DECLUME

—
1919



Digitized by the Internet Archive
in 2026



UNIVERSITÉ DE PARIS

ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE

Année 1918-1919.

N° 3.

Étude sur la teneur alcaloïdique
DE LA
BELLADONE CULTIVÉE

THÈSE

Pour l'obtention du diplôme de Docteur de l'Université de Paris

(PHARMACIE)

Présentée et soutenue le 10 Juillet 1919.

PAR

BEAUSITE, FRÉDÉRIC

Pharmacien de 1^{re} classe
de l'École supérieure de Paris.



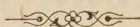
JURY { MM. PERROT, Président.
DELÉPINE, Professeur.
GORIS, Agrégé.

LONS-LE-SAUNIER

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE LUCIEN DECLUME

1919

PERSONNEL DE L'ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE



ADMINISTRATION

MM. H. GAUTIER, Directeur, *, 🌿 I.
BOURQUELOT, Assesseur, *, 🌿 I.
G. DURSANT, Secrétaire, 🌿 I.

PROFESSEURS

MM. GUIGNARD, Membre de l'Institut, O. *, 🌿 I. Botanique générale.
VILLIERS, *, 🌿 I. Chimie analytique.
BOURQUELOT, *, 🌿 I. Pharmacie galénique.
H. GAUTIER, *, 🌿 I. Chimie minérale.
RADAIS, *, 🌿 I. Cryptogamie.
BÉHAL, C. *, 🌿 I. Chimie organique.
PERROT, O. *, 🌿 I. Matière médicale.
COUTIÈRE, *, 🌿 I. Zoologie.
BERTHELOT, 🌿 I. Physique.
GRIMBERT, *, 🌿 I. Chimie biologique.
LEBEAU, *, 🌿 I. Pharmacie chimique.
DELÉPINE, *, 🌿 I. Hydrologie et Hygiène.
GUERBET, 🌿 I. Toxicologie.

Directeur honoraire : M. GUIGNARD, O. *, 🌿 I.
Professeur honoraire : M. MOUREU, O. *, 🌿 I.

CHARGÉS DE COURS

MM. TASSILLY, *, 🌿 I. Minéralogie.
MARC HONNORAT, *, 🌿 I. Législation et Déontologie pharmaceutiques.

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM. VALEUR, *, 🌿 I.	MM. GUÉRIN, 🌿 I.
BOUGAULT, 🌿 I.	GORIS, *, 🌿 I.
SOMMELET, 🌿 I.	LAUNOY.
DAMIENS.	HÉRISSEY, 🌿 I.

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. DEFACQZ, *, 🌿 I. Chimie générale.
COUSIN, 🌿 I. Chimie analytique.
SOUÈGES, 🌿 A. Micrographie.
MOURLOT, 🌿 I. Physique.
DEVAL, 🌿 I. Microbiologie.
JAVILLIER, *, 🌿 I. Trav. généraux de 4^e année.

Chef du Laboratoire des examens pratiques : M. JAVILLIER, *, 🌿 I.
Bibliothécaire en Chef : M. DORVEAUX, 🌿 I.

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE :

MONSIEUR LE PROFESSEUR PERROT,
OFFICIER DE LA LÉGION D'HONNEUR.

Hommage de vive gratitude.

A MON MAÎTRE :

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ A. GORIS,
PHARMACIEN EN CHEF DE L'HÔPITAL DUBOIS,
CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR.

Témoignage de profonde reconnaissance.

A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE ET DE MA MÈRE.

A TOUS LES MIENS ET A TOUS MES AMIS.

INTRODUCTION.

Le dosage des principes actifs dans les médicaments a pris une telle importance, en ces derniers vingt ans, qu'il domine toutes les recherches pharmaceutiques entreprises depuis le début du siècle.

Différentes considérations ont concouru à inciter les pharmaciens à diriger leurs travaux dans une voie dont les résultats sont déjà féconds. Les uns sont guidés uniquement par le souci de se renseigner sur la valeur thérapeutique des médicaments, les autres sont surtout préoccupés de leur valeur commerciale.

La loi sur la répression des fraudes en obligeant les experts à rechercher les meilleures méthodes d'examen, soit des matières premières, soit des produits fabriqués dérivés, est venue donner une impulsion nouvelle aux recherches déjà entreprises.

Enfin, ces dernières années, la culture des plantes médicinales a forcément conduit les industriels et les cultivateurs à se rendre compte de la valeur des produits récoltés et de celle des procédés cultureux mis en œuvre. L'influence de ces derniers était facile à prévoir lorsqu'il ne s'agissait que de la croissance de la plante elle-même, mais le problème le plus intéressant pour le pharmacologue était de savoir, dans chaque cas particulier, quelle était la fumure de choix pour obtenir le meilleur rendement en principes actifs. N'avait-on pas érigé en

dogme que la culture amoindrirait chez les plantes médicinales les vertus thérapeutiques ?

Le travail que nous présentons aujourd'hui a eu pour point de départ un souci de ce genre. Nous avons été amenés, pendant de longs mois, à déterminer la teneur en principes actifs de différentes feuilles de Belladone récoltées au cours d'une année, puis à étudier l'importance des divers engrais employés pour leur culture.

Envisageant la question au point de vue purement pratique, nous devons nous préoccuper, en même temps, du rendement de la plante en extrait et de sa richesse en alcaloïdes.

C'est qu'en effet, contrairement à ce qui était tacitement admis de façon tout à fait gratuite, ces deux données sont relativement assez indépendantes l'une de l'autre. Une feuille de Belladone peut donner un rendement élevé en extrait à titre alcaloïdique faible, alors qu'inversement, on obtiendra avec une autre Belladone une faible quantité d'extrait de titre alcaloïdique élevé ; tout est sous la dépendance de la quantité d'extractif plus ou moins grande dans laquelle se trouvent englobés les alcaloïdes. Les principes qui composent cet extrait sont loin d'être tous définis et ont été fort discutés ; mais la conclusion qui se dégage des travaux contradictoires est que la valeur de l'extractif réside bien plus dans sa teneur en alcaloïdes, que dans son poids global. Dans ces conditions, étant donné le but bien limité et bien précis que nous nous sommes assigné ici, il nous sera permis de considérer l'extractif lui-même comme d'une importance secondaire et de n'en tenir compte, sous toute réserve d'ordre thérapeutique, qu'à titre de substratum des principes actifs.

Ainsi donc, voici deux notions importantes qu'il s'agit de bien dégager dès maintenant : le rendement de la plante en extrait, représentant la somme extractif y com-

pris les alcaloïdes, et la teneur de cette même plante en alcaloïdes isolés ou en état de pureté suffisante.

C'est qu'en effet la feuille de Belladone peut être utilisée à plusieurs fins : soit directement en nature (poudre, cigarettes, etc.), soit sous forme d'extraits, hydro-alcooliques le plus souvent, soit enfin pour l'extraction des alcaloïdes utilisés directement sous forme de sels.

Nos méthodes de dosage doivent donc tenir compte de l'un et l'autre critérium, et nous avons, pour cela même établi un procédé de dosage qui permet de faire simultanément ces deux évaluations.

Ces considérations nous ont amené à faire la comparaison de la méthode à laquelle nous nous sommes arrêté avec celle des procédés antérieurement recommandés. Nous avons été ainsi obligés d'étudier toutes ces méthodes, aussi bien celles qui visaient directement l'essai de la feuille, que celles qui ne s'occupaient que de l'extract. A vrai dire, les difficultés à surmonter sont de deux sortes : l'élimination de la chlorophylle et l'obtention des alcaloïdes dans un assez grand état de pureté et sans perte sensible. Nous verrons, par la suite, les divers moyens mis en œuvre pour y arriver et nous examinerons la valeur des résultats obtenus.

Nous avons été ainsi conduit à exécuter un nombre assez considérable d'analyses depuis plusieurs années.

Il est inutile, nous semble-t-il, de donner ici tous les chiffres consignés dans nos cahiers de laboratoire ; nous choisirons seulement ceux qui nous permettent de justifier ce que nous désirons exposer, négligeant ainsi, intentionnellement, tous ceux qui n'auraient comme effet que de noyer notre idée en allongeant inutilement l'exposé. Ce travail ne suivra donc pas l'ordre chronologique de nos essais, et nous préférons même reporter à la fin ce qui était cependant le but initial de nos recherches.

Nous exposerons tout d'abord les méthodes de titrage

des alcaloïdes dans la feuille de Belladone, et dans un chapitre spécial, les résultats analytiques comparés de ces divers procédés avec ceux qui nous ont été fournis par la méthode préconisée par nous.

Nous ferons de même pour le titrage des extraits et nous montrerons combien il est nécessaire d'unifier toutes ces méthodes de dosage. Nous avons constaté une grande différence entre le procédé adopté par notre pharmacopée et celui de la pharmacopée anglaise et nous en fournirons des exemples probants.

Il est bon de se renseigner sur la valeur des médicaments, mais il est indispensable, avant tout, de se mettre d'accord sur l'instrument de mesure, c'est-à-dire sur la méthode de dosage. On pourrait presque dire : peu importe le procédé employé, pourvu qu'il soit simple et qu'employé par divers opérateurs, il donne des résultats comparables et puisse devenir un mode d'appréciation applicable dans tous les pays.

Dans la dernière partie, nous donnerons les résultats concernant les essais culturaux de la Belladone ; nous regrettons qu'un départ précipité pour les colonies nous ait empêché de poursuivre plus profondément ces recherches. Il y a là matière à de nombreux développements ; mais le rôle des engrais et celui des conditions climatiques sont si connexes, qu'on ne peut espérer définir nettement l'influence de chacun d'eux sans embrasser les résultats d'un certain nombre d'années. Nous avons donc été forcés de nous limiter, mais s'il ne nous est pas possible de suivre, sous un climat très différent, la végétation de la Belladone, du moins emporterons-nous de ce travail le goût pour ce genre d'étude applicable à d'autres plantes de nos colonies.

Qu'il nous soit permis, en terminant, d'adresser nos remerciements les plus vifs à MM. BOULANGER-DAUSSE, qui nous ont fourni si complètement tous les matériaux nécessaires à cette étude.

A M. le Professeur PERROT, qui nous a permis d'entreprendre ce travail au Laboratoire de Matière Médicale de l'Ecole de Pharmacie nous exprimons toute notre gratitude pour son bienveillant accueil.

Ces recherches ont été exécutées sous la haute direction de M. le Professeur Agrégé GORIS, qui a bien voulu nous en indiquer le sujet.

A ce maître bienveillant, qui nous a éclairé de sa longue expérience, et dont les conseils continuels nous ont permis de coordonner nos efforts, nous offrons l'hommage de notre profonde reconnaissance et de notre sincère attachement.

PREMIÈRE PARTIE.

CHAPITRE PREMIER.

Historique des procédés de dosage des alcaloïdes contenus dans les feuilles de Belladone.

Les Méthodes de dosage des alcaloïdes sur la feuille de Belladone peuvent se classer en deux groupes :

1^o MÉTHODES SPÉCIALES AVEC PRÉPARATION PRÉALABLE D'UN EXTRAIT.

Ce sont celles de DRAGENDORFF et GUNTHER (1869), de LEFORT (1872), de DRAGENDORFF (1874), de DUNSTAN et RANSOM (1884), de COBLENTZ (1885) et de BARCLAY (1893).

2^o MÉTHODES GÉNÉRALES SANS PRÉPARATION D'EXTRAIT.

Ce sont celles de KELLER (1894), de SCHMIDT (1900), de PANCHAUD (1903), de LÉGER (1904), de FROMME (1904), de CAESAR et LORETZ (1905).

Examinons séparément ces diverses méthodes.

1^o Méthodes spéciales avec préparation de l'extrait.

Dans ce groupe, les différents auteurs indiquent un *modus faciendi* pour chacun d'eux,

DRAGENDORFF et GUNTHER (1) ont élaboré le procédé de dosage suivant :

« La partie de la plante à essayer est réduite en menus morceaux et épuisée à deux reprises avec chaque fois 10 parties d'eau additionnée de 3 gouttes d'acide sulfurique pour 50 grammes de substance, à la température de 30 à 40°; la solution est filtrée et le résidu exprimé.

« On évapore ensuite au bain-marie jusqu'à consistance sirupeuse et on additionne de trois volumes d'alcool ; on abandonne pendant 24 heures dans un endroit chaud, en ayant soin d'agiter fréquemment. On filtre et on distille d'abord à basse température la plus grande partie de l'alcool, et on concentre ensuite au bain-marie jusqu'à 30-60 grammes, de manière à éliminer complètement l'alcool. Le résidu liquide, possédant une réaction franchement acide, est repris par l'éther de pétrole, lequel s'empare des matières résineuses et colorantes. On soutire le liquide aqueux, on le neutralise par l'ammoniaque, on l'épuise à deux reprises par le chloroforme, et on lave le chloroforme avec une petite quantité d'eau pour le débarrasser des sels ammoniacaux. On laisse déposer, on soutire le chloroforme, on le distille d'abord en partie et l'on finit par le chasser complètement au bain-marie dans un vase taré. Le résidu est formé par l'atropine que l'on pèse ».

Ce procédé donne des résultats trop faibles.

LEFORT (2) a utilisé la formation de l'iodure double par le réactif de MAYER, pour doser l'Atropine sous cette forme.

« La poudre de Belladone est séchée à 100° et épuisée complètement par 4 épuisements successifs à l'alcool à 86°, à la température de 25 à 30°. La solution alcoolique est filtrée, l'alcool distillé et les dernières traces éliminées au bain-

(1) 1869, N. GUNTHER. — Bestimmung des Alkaloidgehaltes in der *Atropa Belladonna* und *Datura Stramonium*. Welche im hiesigen botanischen Garten culturirt worden sind (*Pharmaceut. Zeitschr. f. Russland*, VIII, p. 89-91, 1869). L'auteur a suivi les indications de DRAGENDORFF.

(2) J. LEFORT. — Mémoire sur la répartition de l'Atropine dans la feuille et la racine de Belladone (*Journ. de Pharm. et de Chim.*) (43), XV, p. 265-267, 1872.

« marie. Le résidu est redissous dans l'eau, filtré, lavé à l'eau
« et complété à 50 cc. Dans la solution aqueuse, l'atropine est
« précipitée par l'iodure double de Hg. et K. Le précipité
« d'iodure double d'atropine est recueilli sur un filtre taré,
« lavé, puis séché à 100° jusqu'à poids constant et pesé.

« 100 gr. de précipité correspondent à 33,25 p. d'Atropine ».

Il s'agit donc ici d'un dosage pondéral dans lequel l'Atropine est précipité sous forme d'iodomercurate plus ou moins chargé d'impuretés.

DRAGENDORFF (1) a déterminé les conditions du dosage volumétrique de l'Atropine par le réactif de MAYER.

« La concentration en alcaloïdes de la solution à titrer ne
« doit pas être inférieure à 1/350, ni supérieure à 1/500. Le
« réactif de MAYER décimal est dilué de son volume d'eau.
« On introduit d'un seul coup la quantité immédiatement infé-
« rieure à la quantité nécessaire, pour la précipitation com-
« plète, et on continue l'addition du réactif goutte à goutte,
« jusqu'à ce que l'essai à la touche ne provoque plus de trouble
« dans le liquide filtré.

« 1 cc. de la solution titrée, diluée de son volume d'eau (c'est-
« à-dire $\frac{N}{20}$) correspond à 0,00625 d'Atropine.

« Il est préférable d'employer le dosage gravimétrique
« suivant : La solution d'atropine acidulée par l'acide sulfu-
« rique est précipitée par un excès d'iodure double de K. et
« Hg. Au bout de plusieurs heures, une masse résineuse se
« sépare. On la filtre, on lave l'eau, on redissout dans l'alcool,
« on chasse l'alcool et on pèse le résidu préalablement séché
« à 100°.

« 100 p. du résidu sec renferment 44,9 p. d'atropine ».

L'auteur essaye donc d'utiliser le réactif MAYER pour un dosage volumétrique, mais semble le reconnaître imparfait puisqu'en fin de compte, il lui préfère une variante du procédé gravimétrique de LEFORT en employant un coefficient multiplicateur plus élevé que cet auteur. On voit par cela même le peu

(1) DRAGENDORFF, G. — Die chemische Werthbestimmung einiger starkwirkender Drogen und her aus ihnen angefertigten Arzneimischungen. 874, St-Petersburg, Röttger, 1874.

de confiance que les auteurs attribuent à la constance de composition du précipité d'iodomercurate d'atropine.

DUNSTAN et RANSOM puis REDWOOD (1) donnent un procédé identique permettant un dosage rapide et exact des alcaloïdes de la Belladone.

« On épuise par percolation 20 gr. de poudre sèche : on
« effectue l'épuisement par un mélange, bouillant à 60-70°, de
« chloroforme et d'alcool absolu à parties égales ; 60 cc. de ce
« mélange suffisent lorsqu'on se sert d'un bon appareil. On
« agite le mélange d'alcool et de chloroforme deux fois avec
« 25 cc. d'eau chaque fois, laquelle dissout les sels d'alcaloïdes.
« on lave la solution aqueuse avec du chloroforme pour
« éliminer les matières colorantes, on soutire la solution
« aqueuse, on l'alcalinise, par l'ammoniaque et on l'épuise à
« deux reprises par 25 cc. de chloroforme. L'extrait chloroforme
« mique est lavé avec une faible quantité d'eau ammoniacale
« puis évaporé au bain-marie jusqu'à poids constant et l'on
« pèse le résidu. Pour estimer la quantité du résidu d'atropine
« et d'hyoscyamine, on le redissout dans l'acide chlorhydrique
« dilué et on ajoute au liquide un excès de solution d'iode dans
« l'iodure de potassium. Le précipité est recueilli sur un filtre,
« lavé avec la solution iodée, puis décomposé sur le filtre par
« une solution d'hyposulfite de soude. On obtient une solution
« incolore de laquelle l'alcaloïde est enlevé par agitation avec
« du chloroforme, on évapore ce dernier dans une capsule
« tarée ».

Dans ce procédé, il faut admettre que l'eau pure enlève tous les alcaloïdes à la solution chloroforme-alcool employée : ce qui n'est pas.

COBLENTZ (2) opère de la manière suivante : « Il épuise
« 100 gr. de feuilles de Belladone avec de l'eau bouillante additionnée de 1 gr. d'acide tartrique, il concentre jusqu'à consistance d'extrait mou et l'épuise avec de l'alcool absolu
« (5 gr. d'alcool pour 1 gr. d'extrait). Cet extrait est repris

(1) DUNSTAN et RANSOM : The essay of Atropa Belladonna, *Pharm. Journ. and Trans.*, (3), XIV, p. 624, 1883-1884.

(2) V. COBLENTZ. — Comparative quality of Belladonna leaves (*Pharm. Journ. and Trans.*, (3), XVI, 89-91, 1885-1886).

« 3-4 fois jusqu'à épuisement total. On filtre la teinture, ajoute
« de l'eau, évapore pour obtenir un extrait fluide, transvase
« dans une ampoule et lave plusieurs fois avec de petites
« quantités d'éther. Il sépare l'éther, alcalinise la solution
« aqueuse par l'ammoniaque et épuise par le chloroforme. Par
« l'évaporation on obtient les alcaloïdes impurs. Pour déter-
« miner le poids d'alcaloïde pur, l'auteur emploie la méthode
« DUNSTAN et RANSOM. Il précipite l'atropine et l'hyoscyamine
« à l'état de periodure qu'il décompose par l'hyposulfite et
« détermine le dosage en suivant les indications du précédent
« procédé ».

Par cette marche, l'auteur évite d'opérer avec une liqueur extractive d'une teneur trop élevée en chlorophylle.

Ce procédé est préférable au précédent; mais, la purification qu'emploie ces auteurs donne une perte sensible d'alcaloïdes.

« BARCLAY (1) épuise par percolation 10 gr. de poudre par
« un mélange d'alcool et de chloroforme (1.200 gr.) agite
« l'extrait 3 fois avec de l'eau sulfurique, lave la solution acide
« avec du chloroforme, alcalinise et enlève les alcaloïdes par
« un mélange d'éther et de chloroforme. On chasse le solvant
« au bain-marie, reprend le résidu avec 5 cc. d'acide acétique,
« et 20 cc. d'eau, en chauffant et en remuant de manière à obtenir
« un liquide homogène; on transvase dans une fiole jaugee de
« 100 cc. On ajoute 40 cc. d'acétate de plomb à 25⁰/₁₀ et com-
« plète à 100 cc. avec de l'eau. On filtre au bout de quelques
« heures, 50 cc. dans une fiole de 100 cc., on additionne de 40 cc.
« d'une solution saturée de phosphate de soude, agite et complète
« avec de l'eau à 100 cc.; on laisse séparer le phosphate de plomb
« pendant 12 heures. On prélève 50 cc., sature par l'ammoniaque
« et épuise par le chloroforme. On évapore l'extrait chlorofor-
« mique dans une fiole tarée et on pèse le résidu.

« Pour vérifier le résultat, reprendre le résidu avec 5 cc. de
« HCl N/10 et titre l'excès d'acide par la soude N/100 en pré-
« sence de l'hélianthine ».

Ce procédé ressemble à celui de DUNSTAN et RANSOM par l'emploi du mélange alcool-chloroforme pour l'extraction. Mais

(1) J. BARCLAY. — Stantardisation of the official Belladonna preparations (*Pharm. Journ. and Trans.* (3), XXIII, 740-742, 1892-93).

la quantité de solvant employée ici est supérieure et permet l'épuisement complet de la plante. L'auteur purifie ces alcaloïdes par une marche spéciale qui permet d'obtenir des alcaloïdes très purs, mais les pertes sont trop sensibles.

En général ces méthodes, sauf la dernière, donnent des résultats inconstants pour chacune d'elles, et trop discordants pour être comparables ; la dernière donne un rendement trop faible et nécessite une trop grande quantité de solvant.

2° Méthodes générales sans préparation d'extrait.

Dans ces procédés, les auteurs extraient directement les alcaloïdes de la plante. Ces méthodes sont plus pratiques et permettent une sensible économie de temps. Les solvants employés sont : l'alcool, l'éther et chloroforme ou un mélange de ces liquides. Le déplacement des alcaloïdes de la plante s'obtient au moyen d'un alcali dont le choix est variable avec chaque auteur, la nature de cet alcali va nous permettre d'y établir un classement en trois subdivisions :

- | | |
|-----------------------------------|---|
| 1° Méthodes par l'Ammoniaque..... | KELLER, PANCHAUD,
FROMME, CAESAR et
LORETZ. |
| 2° Méthode par la Soude..... | SCHMIDT. |
| 3° Méthode par la Magnésie..... | LEGER. |

I. — Déplacement des Alcaloïdes par l'Ammoniaque.

« KELLER (1) a donné une méthode générale de dosage applicable pour la plupart des alcaloïdes. Le procédé consiste à
« traiter les substances par un alcali en présence d'éther ou
« d'un mélange d'éther-chloroforme. On décante la solution
« éthérée d'alcaloïdes, on l'agite avec un acide. La solution

(1) C.-C. KELLER.—Mitteilungen ueber die Wertbestimmung von Drogen (Schweizer Wochenschr. f. Chim. und Pharm., XXXII, 44-47, 56-58, 67-69, 121-126, 133-136, 1894).

« acide est saturée par l'ammoniaque, et les alcaloïdes mis en liberté sont épuisés par l'éther ou par un mélange d'éther : 2 parties, et de chloroforme : 3 parties. Par évaporation du solvant, on obtient l'alcaloïde en question.

« Certaines précautions sont nécessaires, c'est ainsi que dans certains cas il est nécessaire de dégraisser préalablement la poudre.

« En général, trois agitations avec un acide dilué à 10/0 suffisent pour enlever tout l'alcaloïde au solvant. La solution acide est également épuisée trois fois par le solvant, après alcalinisation. Enfin, il est préférable d'introduire le solvant d'abord et l'alcali ensuite.

« Pour titrer le résidu sec d'alcaloïdes, on le dissout dans 5 cc. d'alcool ; on ajoute de l'eau jusqu'à la formation d'un trouble persistant et on titre à l'hématoxyline avec de l'acide chlorhydrique N/10 ou N/20.

« Les détails des opérations et les quantités à employer dans le cas particulier sont les suivants : On prend 25 gr. de poudre de la feuille de Belladone et on ajoute : éther, 100 gr. ; chloroforme, 25 gr. ; AzH^3 , 10 gr. ; Eau, 40-50 gr. On prélève 100 gr. du liquide, agite avec HCl à trois reprises différentes. On alcalinise par AzH^3 et on épuise de nouveau avec le mélange éther-chloroforme. On obtient l'atropine à l'état très pur. Par plusieurs traitements à l'éther, elle devient cristalline. On peut la peser ou la doser volumétriquement ».

L'auteur envisage donc deux dosages : l'un par pesée, l'autre par titrage, sans nous dire celui qui est préférable. Il ne nous donne aucun renseignement sur la durée de la macération.

Le principe du procédé est inattaquable ; mais les détails d'exécution faisant défaut, les résultats obtenus par les opérateurs ne sont pas toujours concordants. Une mise au point pour chacune des drogues considérées aurait pu seule permettre une appréciation exacte. L'auteur n'en a pas moins le grand mérite d'avoir envisagé une méthode générale excellente.

« PANCHAUD (1) recommande de mélanger et de secouer

(1) A. PANCHAUD. — Alkaloidbestimmung in Drogen (*Schweizerische Wochenschrift für Chim. und Pharm.*, XLI, 585-588, 1903).

« pendant 10 minutes, 12 gr. de poudre avec 120 gr. d'éther, « on additionne le mélange de 10 cc. d'ammoniaque à 10 %, et « agite fréquemment pendant 1/2 heure. On laisse reposer « 1/4 d'heure, filtre une partie aliquote d'éther, agite l'éther « avec 30, 20 et 10 cc. de HCl à 0,5 % ; on filtre au besoin la « solution acide, on l'alcalinise par l'ammoniaque et on l'épuise « avec 3 fois 40 cc. d'éther. Distiller l'éther dans une fiole « tarée, sécher le résidu à 100° et peser ».

Ce procédé diffère du précédent par la méthode d'extraction des alcaloïdes. L'éther remplace le mélange éthero-chloroformique. Le *modus faciendi* mis en œuvre est préférable à celui de la méthode KELLER, mais il est loin d'être parfait. La purification des alcaloïdes est très incomplète, aussi le dosage pondéral est-il par suite inexact.

« FROMME (1) trouve le procédé PANCHAUD très satisfaisant, il « propose toutefois quelques modifications dans les détails. Le « mode opératoire est le suivant :

« Laisser macérer pendant 1/2 heure en agitant fréquemment « 15 gr. de poudre avec 150 gr. d'éther et 12 gr. d'ammo- « niaque à 10 % ; laisser reposer 1/4 d'heure ; filtrer 100 gr. « d'éther (= 10 gr. de poudre) ; il est préférable de filtrer sur « un tampon de coton dégraissé ; agiter l'éther avec 30, 20 et « 10 cc. de HCl à 0,5-1 % et filtrer la solution acide.

« Si le filtrat n'est pas limpide, on l'agite avec une petite « quantité d'éther qu'on sépare. Alcaliniser la solution acide « avec l'ammoniaque, enlever les alcaloïdes par agitation avec « 40, 30, 20 gr. d'éther, distiller l'éther dans une fiole tarée ; « reprendre le résidu 3 fois par 5 cc d'éther et évaporer l'éther « chaque fois ; sécher le résidu à 100° et peser.

« Pour titrer ensuite le résidu, on le reprend par l'alcool « absolu, on ajoute 20 cc. d'eau et on titre avec un acide N/100.

« L'indicateur employé est l'azolithmine ou éhématoxyline ».

L'auteur fait le contrôle du dosage pondéral par un titrage volumétrique.

CAESAR et LORETZ (2) « Dans ce procédé, on mélange

(1) G. FROMME. — *Geschäfts-Bericht von Caesar et Loretz*, p. 67-71, 1903.

(2) CAESAR et LORETZ. — *Geschäfts-Bericht von Caesar et Loretz*, p. 26-28, 1905.

« 15 gr. de poudre séchée à l'air avec 150 gr. d'éther ; on
« ajoute au bout de 5 minutes 10 gr. d'ammoniaque et *laisse*
« *macérer 1/2 heure*, en agitant. Puis filtrer l'éther sur un
« tampon de coton et l'agiter avec 1 cc. d'eau. Décanter après
« séparation 100 gr. d'éther et agiter avec 15, 10 et 10 cc. de
« HCl à 1 %. Filtrer les solutions acides, alcaliniser par
« l'ammoniaque et épuiser la solution alcaline avec 15, 10 et
« 10 cc. de chloroforme. Filtrer le chloroforme dans une fiole
« tarée, évaporer le chloroforme à une douce chaleur. reprendre
« le résidu par 5 cc. d'éther et l'évaporer également ; sécher
« ensuite dans un dessiccateur jusqu'à poids constant et peser
« le résidu.

« Pour vérifier le résultat titrimétriquement, reprendre le
« résidu par 1-2 cc. d'alcool absolu ; additionner la solution de
« 20 cc. d'eau et de quelques gouttes d'hématoxyline, et titrer
« par HCl N/10 ou N/100 ».

Cette méthode diffère des précédentes par l'emploi du chloroforme comme seul solvant final des alcaloïdes. L'auteur a recours successivement au dosage par pesée et au dosage par volume.

Ainsi donc les méthodes KELLER, PANCHAUD, FROMME, CAESAR et LORETZ, dont les principes sont semblables, obtiennent le déplacement des alcaloïdes par l'ammoniaque ; KELLER passe sous silence la durée de macération de la plante, les autres indiquent 10 minutes ou 1/2 heure ; PANCHAUD ne fait qu'un dosage par pesée ; les autres auteurs complètent leur dosage pondéral par un dosage volumétrique. Il est à noter que, dans les méthodes par pesée, les alcaloïdes sont souvent souillés d'impuretés, ou, s'ils sont purifiés, le rendement est souvent inférieur. Ces raisons semblent justifier le rejet des méthodes pondérales, jusqu'au moment où l'on arrivera à isoler quantitativement les alcaloïdes bien purifiés. La vérification volumétrique employée par KELLER, FROMME, et CAESAR et LORETZ justifient notre façon de voir.

II. — *Déplacement des Alcaloïdes par la Soude.*

Dans un seul procédé l'emploi de la soude est recommandé.

C'est celui de SCHMIDT (1): « 10 gr. de poudre fine séchée sur
« la chaux vive jusqu'à poids constant sont mélangés à 90 gr.
« d'éther et 30 gr. de chloroforme et additionnés, après agi-
« tation, de 10 cc. de NaOH à 10 %. On abandonne pendant
« 3 heures en agitant fréquemment. On ajoute 10 cc. d'eau ou
« une quantité suffisante pour agglomérer la poudre ; on laisse
« déposer 1 heure, on filtre 60 cc. correspondant à 5 gr. de
« poudre de la solution éthéro-chloroformique et on en distille
« la moitié pour éliminer l'ammoniaque. Il ne faut pas pousser
« l'évaporation trop loin, car le chloroforme agirait alors sur
« les alcaloïdes avec formation de chlorhydrate.

« On transvase le liquide vert dans une ampoule, laver le
« ballon avec 3 fois 5 cc. d'éther et épuise les alcaloïdes avec
« 10 cc de HCl N/100. (Ajouter au besoin encore un peu d'éther
« pour séparer la couche chloroformique). On filtre la solution
« acide limpide, lave le chloroforme avec 3 fois 10 cc. d'eau, et
« filtre les eaux de lavage sur le même filtre ; on titre ensuite
« l'excès d'acide par la NaOH N/100 ».

L'auteur ne fait donc qu'un dosage volumétrique. La durée de la macération est, à notre avis, trop courte.

III. — *Déplacement des Alcaloïdes par la Magnésie.*

LÉGER (1) a indiqué un procédé de dosage dans lequel la magnésie intervient pour le déplacement de l'alcaloïde :

(1) G. SCHMIDT. — *Über die quantitative Bestimmung des Alkaloidgehaltes der Blätter von Datura Stramonium, Hyoscyamus unges und Atropa Belladonna* *Apotheker Zeitung*, XV, 13-14, 1900.

(1) E. LÉGER. — Note sur l'essai des drogues simples. Drogues renfermant des alcaloïdes (*Journ. de Pharm. et de Chim.* (6^e) XIX, 329-337, 1904).

« Mélanger au mortier 25 gr. de feuilles sèches avec 5 gr. de magnésie calcinée et 15cc. d'eau. agiter ce mélange avec 625cc. d'éther lavé à l'eau. Après 12 heures de macération (on a soin d'agiter de temps en temps), filtrer 500 cc. correspondant à 20 gr. de poudre, distiller l'éther, redissoudre le résidu dans 20 cc. d'éther et additionner de 10cc. HCl N/10 et de 20 cc. d'eau. Secouer vigoureusement, soutirer l'acide, laver l'éther avec 2 fois 25 cc. d'eau. Filtrer la solution acide et les eaux de lavage, compléter le volume à 150 cc. environ et titrer l'excès d'acide par la soude N/100 en présence d'iodéosine. En multipliant le nombre de cc. d'acide HCl N/10 absorbé par 0,1445 dans le dosage de la Belladone, on obtient la teneur en alcaloïdes. »

De toutes les méthodes employées, celle de l'auteur apparaît comme l'une des mieux établies.

Mais l'emploi d'un grand volume d'éther, dont le prix est à considérer dans les laboratoires particuliers, le rend très dispendieux.

D'autre part, au point de vue pratique, l'emploi de l'éther comme solvant présente des difficultés dans la filtration à cause de sa grande volatilité. Malgré toute la diligence de l'opérateur, une perte sensible ne peut être évitée, et nous avons pu nous assurer que dans l'obtention du volume demandé par cette méthode on arrive à un liquide chargé de principes correspondant à un volume de 525 cc. au moins.

D'autre part, dans les poudres préparées avec des feuilles récemment séchées ou stabilisées, l'éther fournit un liquide d'épuisement très coloré par la chlorophylle. Dans pareil cas le dosage est délicat, il est presque impossible de saisir nettement la fin de la réaction à l'iodéosine ; parfois aussi une émulsion trop stable ne permet même pas de séparer facilement la solution acide et le dosage volumétrique est rendu impossible.

PROCÉDÉ PERSONNEL. — Voici la méthode de dosage que nous avons établie pour doser les alcaloïdes et le rendement en extrait des feuilles de Belladone :

« On prend 25 gr. de poudre préalablement séchée à 30°, les

« épuise avec 250 gr. d'alcool à 70° en les plaçant dans un
« ballon mis au B. M. bouillant, ce ballon est surmonté d'un
« Soxhlet et d'un réfrigérant à reflux. On arrête l'épuisement
« après quelques heures d'ébullition douce lorsque la moitié de
« l'alcool est venu se condenser dans le Soxhlet ; on cesse
« alors de chauffer, et laisse refroidir le ballon, on verse
« sur un filtre et lave avec les 125 gr. d'alcool condensé
« dans le tube, puis on arrose le filtre avec 20 cc. d'eau distillée
« pour chasser complètement l'alcool resté inhérent à la
« poudre. On distille pour obtenir finalement un extrait que
« l'on reprend par l'eau (100 cc. environ). On laisse déposer
« pendant au moins 6 heures, afin de permettre à la chloro-
« phylle de se séparer en s'agglutinant le long des parois ; on
« filtre, on lave la capsule et le filtre avec de l'eau distillée
« chaude en plusieurs fois et en quantité suffisante pour obtenir
« 250 cc. d'une solution que je désignerai sous le nom de *liqueur*
« *primitive d'épuisement*.

« Nous nous sommes assurés, par un épuisement du résidu à
« l'eau acidulée par l' SO^4H^2 , que ce dernier ne renfermait plus
« d'alcaloïdes, car le réactif VALSER employé dans ces condi-
« tions ne nous a donné aucun précipité.

« De cette liqueur primitive d'épuisement nous faisons deux
parts :

« L'une de 200 cc. représentant 20 gr. de poudre, nous servira
« à doser les alcaloïdes.

« L'autre de 50 cc. correspondant à 5 gr. de poudre, est
« destinée à évaluer le rendement en extrait.

« Il est indispensable de passer par l'obtention de cet extrait
« mou et sa reprise par l'eau, si l'on veut éviter dans la liqueur
« d'analyse, la présence de chlorophylle, qui rend tout dosage
« incertain. De même le partage de la solution aqueuse en deux
« parties pour le dosage des alcaloïdes et le rendement en
« extrait nous évite de faire deux évaporations et deux traite-
« ments à l'eau, qui seraient obligatoires si nous faisions le
« partage sur la liqueur alcoolique.

« Chacune de ces parties aliquotes est évaporée séparément
« au B. M. en consistance d'extrait mou.

« L'extrait provenant des 200 cc. de la liqueur primitive est
« dosé d'après le procédé du Codex. Il est dissout par 10 gr.
« d'alcool à 60° au B.M. dans un flacon de 125 cc. puis additionné
« de 50 gr. d'éther et de 20 gr. de chloroforme et après une
« vive agitation, de 10 cc. d'une solution de carbonate neutre de
« soude à 25 $\frac{0}{10}$. Le mélange est abandonné pendant une heure,
« en l'agitant fréquemment ; au bout de ce temps, on filtre
« rapidement dans un petit ballon le liquide éthéro-chloroformique
« surnageant sur un filtre sec et bien couvert, pour en
« recueillir 50 gr. représentant les $\frac{2}{3}$ de l'extrait ; puis on
« distille pour le réduire à la moitié de son volume. Le résidu
« de la distillation est versé dans une ampoule à décantation,
« le ballon est soigneusement rincé à trois reprises en em-
« ployant chaque fois 5 cc. d'éther que l'on verse également dans
« l'ampoule à décantation et on agite les liquides réunis avec
« 40 cc. de solution centinormale de SO^4H^2 . (Il est quelquefois
« nécessaire, ici, d'ajouter un peu d'éther pour faciliter la
« séparation des liquides.) Après séparation complète des
« liquides, on filtre la couche aqueuse à travers un petit filtre
« sans plis, préalablement mouillé avec un peu d'eau, dans un
« flacon en verre blanc d'une contenance d'environ 200 cc. on
« agite ensuite par trois fois la solution éthéro-chloroformique
« avec 10 cc. d'eau distillée, on filtre sur le même filtre, lave ce
« dernier avec un peu d'eau distillée en quantité suffisante pour
« compléter le volume de 100 cc. ensuite on ajoute dans le flacon
« assez d'éther pour former une couche surnageante d'un cen-
« timètre de hauteur, puis cinq gouttes d'une solution alcoo-
« lique d'iodéosine à 0 gr. 20 $\frac{0}{10}$. On laisse couler peu à peu
« au moyen d'une burette graduée la solution aqueuse centi-
« normale de soude (en agitant fortement après chaque addi-
« tion) jusqu'à ce que la couche aqueuse prenne une coloration
« rose-pâle ; on lit alors le nombre de cc. de solution de soude
« employée ; on le retranche de 40 (qui correspond à la quantité
« d'acide versé précédemment) prend la moitié du reste, multi-
« plie le résultat par 3 puis par 0,00289 qui est le coefficient
« moyen adopté pour l'ensemble des alcaloïdes de la Belladone
« par les diverses pharmacopées et on a ainsi le poids des
« alcaloïdes contenus dans 20 gr. de poudre, il suffit de

« la multiplier par 5 pour obtenir le pourcentage de la poudre.

« L'extrait provenant du dernier cinquième de notre liqueur « primitive d'extraction, c'est-à-dire (des 50cc.) placées dans une « capsule tarée et correspondant à 5 gr. de poudre est desséché « à l'étuve à 100° jusqu'à poids constant que l'on note : soit « *p* ce poids c'est celui de l'*extrait sec* correspondant.

« D'après les indications du Codex, l'extrait mou doit con-
« tenir 10 % d'eau, notre poids *p* d'extrait sec correspond
« donc à un poids d'extrait mou Codex égal à $\frac{p \times 10}{9}$ et ce ré-
« sultat, multiplié par 20, nous donnera le poids de l'extrait
« mou correspondant à 100 gr. de la poudre de Belladone
« essayée.

« Si l'on voulait ne doser que les alcaloïdes, on peut employer
« la variante suivante : 25 gr. de poudre préalablement séchés
« à 30° sont introduits dans un ballon avec 250 gr. d'alcool
« à 70°.

« On pèse le ballon avec toutes ces matières et on note le
« poids.

« On chauffe au B. M. bouillant le ballon muni d'un réfrigé-
« rant à reflux pendant une à deux heures. On cesse de chauffer,
« laisse refroidir, pèse à nouveau le ballon et complète, s'il y a
« lieu, le poids avec de l'alcool à 70°. On filtre et recueille
« 200 gr. de liquide alcoolique correspondant à 20 gr. de
« poudre. On évapore en consistance d'extrait et reprend par
« 100 cc. d'eau : on laisse déposer 6 heures pour séparer la
« chlorophylle et termine comme précédemment ».

CHAPITRE II.

Comparaisons entre les différents modes de dosage.

Parmi les méthodes précédemment exposées, beaucoup d'entre-elles n'offrent plus, à l'heure actuelle, qu'un intérêt rétrospectif et élémentaire. Elles n'en ont pas moins le mérite de représenter un labeur considérable, qui n'est pas sans intérêt puisque, grâce à elles, nous avons pu arriver peu à peu à d'autres procédés à la fois plus simples et plus exacts.

Comme nous allons le voir, les méthodes de LÉGER, de BARCLAY, CAESAR et LORETZ et de SCHMIDT, méritent de retenir plus particulièrement l'attention ; car elles marquent une étape de progrès très sensible sur leurs devancières.

La méthode LÉGER nous a donné les résultats suivants :

Dans une <i>première expérience</i> et sur le même échantillon de feuilles de Belladone	0,81 ⁰ / ₀ .
Procédé personnel.....	0,75 ⁰ / ₀ .
Dans une <i>deuxième expérience</i>	0,88 ⁰ / ₀ .
Procédé personnel.....	0,84 ⁰ / ₀ .
Dans une <i>troisième expérience</i>	0,67 ⁰ / ₀ .
Procédé personnel	0,60 ⁰ / ₀ .

Les chiffres obtenus par le procédé LÉGER sont un peu plus forts et nous en avons indiqué les raisons : la difficulté de filtrer l'éther sans évaporation qui amène une concentration de la liqueur.

Nous pouvons résumer dans le tableau suivant :

NUMÉRO des échantillons	MÉTHODE LÉGER	MÉTHODE BEAUSITE	DIFFÉRENCE
1	0,81	0,75	+ 0,06
2	0,88	0,84	+ 0,04
3	0,67	0,60	+ 0,07

Donc les deux méthodes donnent des résultats très comparables qui peuvent être employés au gré de l'opérateur, nous avons indiqué les raisons qui nous font préférer la nôtre.

En possession des chiffres exacts sur la teneur des feuilles de Belladone en alcaloïdes, nous pouvions alors les comparer avec ceux des autres procédés

Ainsi, par exemple, la méthode de COBLENTZ nous a donné pour la feuille n° 1 une moyenne de 0,47 soit une différence de 0,28 avec le nôtre. Ce procédé n'est donc pas à conseiller puisqu'il donne des chiffres trop inférieurs, ce que nous avons pu constater sur d'autres échantillons.

La méthode BARCLAY donne pour le premier échantillon :

Par le dosage pondéral..... 0,63 $\frac{0}{0}$
 Par le dosage volumétrique... 0,621 $\frac{0}{0}$

Nous voyons qu'exceptionnellement ici les deux dosages volumétriques et gravimétriques sont concordants ; mais le chiffre est inférieur de 0,12 à celui obtenu par notre procédé. C'est donc une différence de 16 $\frac{0}{0}$.

Comparons maintenant les méthodes de PANCHAUD et de CAESAR et LORETZ, nous verrons qu'elles nous fournissent des résultats inférieurs.

Pour le 1^{er} échantillon de poudre, nous obtenons :

Par la méthode PANCHAUD (dosage pondéral).....	0,57	0/0
et par celle de CAESAR et LORETZ	{ dosage pondéral.....	0,55 0/0
		dosage volumétrique... 0,455 0/0

Les procédés employés par ces auteurs sont cependant basés sur un principe excellent ; à quoi donc est dû cette différence ? Nous avons pensé qu'elle est occasionnée par une macération insuffisante et pour le démontrer nous avons fait les expériences suivantes :

	DOSAGE PONDÉRAL	DOSAGE VOLUMÉTRIQUE
Après macération 1 ^o d'une 1/2 heure....	0,55	0,455
— 2 ^o de 4 heures.....	0,58	0,543
— 3 ^o de 12 heures.....	0,60	0,592
— 4 ^o de 24 heures.....	0,97	0,791

Ces chiffres nous montrent : 1^o l'importance de la durée de la macération et 2^o le peu d'exactitude du procédé pondéral dû à la présence d'une trop grande quantité d'impureté entraînée, puis pesée comme alcaloïdes.

Le procédé SCHMIDT comparé aux méthodes de LÉGER nous a donné :

Pour le 1 ^{er} échantillon.....	0,56 0/0
Pour le 2 ^e échantillon.....	0,66 0/0
Pour le 3 ^e échantillon.....	0,46 0/0

Ces chiffres consignés dans le tableau suivant font mieux ressortir la divergence des 2 procédés :

NUMÉROS des échantillons	MÉTHODE SCHMIDT	MÉTHODE BEAUSFTE	DIFFÉRENCE
1	0,56	0,75	— 0,19
2	0,66	0,84	— 0,18
3	0,46	0,60	— 0,16

Pour rendre plus facile la comparaison de tous ces résultats nous les condons dans le tableau général suivant :

NUMÉROS des échantillons	LÉGER	CAESAR et LORETZ macération prolongée (24 heures)	BARCLAY	SCHMIDT	BEAUSITE
1	0,81	0,791	0,62	0,56	0,75
écart avec le procédé BEAUSITE	+ 0,06	+ 0,045	— 0,13	— 0,19	
2	0,88	0,86	0,78	0,66	0,84
écart avec le procédé BEAUSITE	+ 0,04	+ 0,02	— 0,10	— 0,18	
3	0,67	0,60	0,51	0,46	0,60
écart avec le procédé BEAUSITE	+ 0,07	0	— 0,09	— 0,16	

De ces tableaux il résulte nettement :

1° Que la méthode proposée par nous donne des résultats constants comparables entre eux ;

2° Que les méthodes qui peuvent être employées aux dosages sont celle de CAESAR et LORETZ avec macération de 24 heures (évaluation volumétrique), celle de LÉGER, et enfin celle que nous avons indiquée et qui nous a servi pour l'étude des variations des alcaloïdes dans les essais de cultures.

DEUXIÈME PARTIE.

CHAPITRE PREMIER.

Historique des procédés de dosage des alcaloïdes dans les extraits de Belladone.

Les procédés de dosage des alcaloïdes dans l'extrait de Belladone sont nombreux ; nous pouvons les classer d'après le mode initial des déplacements des alcaloïdes :

1° Le déplacement initial s'effectue à l'aide d'un acide : ce sont les méthodes de DUNSTAN et RANSOM (1885) ; de SCHWEISINGER (1886) ; de WILSON (1905) ; de BIRD (1899) ; et de HELFENBERG (1905) ;

2° Le déplacement initial s'effectue à l'aide d'un alcali : celles de H. KUNZ (1886) ; de GRIPPS (1895) ; de PUCKNER (1898) ; de SCHESTOPAL (1900) ; de MERCK (1900) ; de RUPP et ZINNIUS (1908) ; de LYONS (1908) ; et de JAVILLIER (1910).

1° *Déplacement initial par un acide.*

DUNSTAN et RANSOM (1) recommandent de doser l'extrait alcoolique de Belladone par la méthode suivante :

Triturer 1 à 2 gr. d'extrait avec de l'acide chlorhydrique dilué chaud, filtrer après refroidissement sur du coton de verre

(1) W. DUNSTAN et F. RANSOM. — Chemical Report on the pharmaceutical of *Atropa Belladonna*. Part I. The alcoholic Extract of the leaves of *Atropa Belladonna*. *Pharm. Journ. and Trans.*, (3) XVI, 238-239, 1885-1886.

et laver à l'eau acidulée, agiter la solution acide à plusieurs reprises avec du chloroforme ; séparer ce dernier, saturer la solution acide par l'ammoniaque et épuiser à nouveau par le chloroforme. Par évaporation de ce dernier, on obtient le résidu d'atropine et d'hyosciamine à l'état de pureté.

SCHWEISSINGER (1) fait dissoudre 5 gr. d'extrait de Belladone dans une très petite quantité d'eau, et agiter avec 5 volumes d'alcool ; on décante, on délaye le résidu dans très peu d'eau, on agite de nouveau avec 5 volumes d'alcool, on fait 4-5 épuisements analogues. La solution alcoolique est alors concentrée à consistance d'extrait. On le reprend par 50 gr. d'acide sulfurique à 5 % et on chauffe pendant 1/2 heure au bain-marie. On filtre après refroidissement dans une ampoule à décantation et on lave le filtre avec de l'acide sulfurique à 1 % ; on alcalinise par l'ammoniaque et on agite avec du chloroforme. On soutire le chloroforme après un contact de 6 à 10 heures et on épuise le liquide aqueux encore deux fois de la même manière. On distille ensuite les solutions chloroformiques, on redissout le résidu dans l'alcool et on titre avec de l'acide chlorhydrique N/100 en employant comme indicateur la teinture de cochenille

WILSON (2) fait mélanger 10 cc. d'extrait avec 10 cc. d'eau acidulée avec SO^4H^2 et évaporer à consistance sirupeuse ; on dilue alors dans 20 cc. d'eau, filtre sur du coton dans une ampoule, lave la capsule et le coton à l'eau. On ajoute 10 cc. d'un mélange à volumes égaux de chloroforme et d'éther et un excès d'ammoniaque. Agiter, séparer l'éther-chloroforme, et répéter l'épuisement encore deux fois avec les mêmes quantités de solvant. Extraire ensuite les alcaloïdes en agitant la solution chloroformique avec 5 cc. de SO^4H^2 dilué et 10 cc. d'eau chaude, répéter l'épuisement une deuxième fois. Laver la solution acide avec 3 cc. d'éther-chloroforme, séparer puis alcaliniser la solution acide par l' AzH^3 , épuiser trois fois avec 10 cc. d'éther-chloroforme. Evaporer les solutions éthéro-chloroformiques

(1) SCHWEISSINGER. — Alkaloidbestimmung im Belladonna extract, *Pharm. Centralhalle*, XXVII, 467-469 ; 492-493, 1886.

(2) H. WILSON. — The assay of extractum Belladonnae liquidum. *Pharmaceutical Journ. and Trans.* (4), VI, 450, 1898.

dans une capsule tarée ; sécher à 100° et peser le résidu. Reprendre par 10 cc. de HCl N/10 et titrer l'excès d'acide avec de la soude N/100 en présence de teinture de cochenille.

Le procédé de BIRD (1) consiste à éliminer les résines avant la filtration. Mélanger 10 cc. d'extrait fluide de Belladone avec 40 cc. d'eau 10 cc. de SO^4H^2 dilué et 20 cc. CHCl^3 . Agiter, chauffer légèrement pour faciliter la séparation et soutirer la solution aqueuse. Laver encore une fois avec 10 cc. de CHCl^3 ; soutirer, laver le chloroforme avec 1 cc d'acide dilué et 4 cc. d'eau. Mettre en liberté les alcaloïdes dans la solution acide par un léger excès d'ammoniaque et épuiser avec 10 cc. de CHCl^3 . Évaporer l'extrait chloroformique, sécher à 100°, reprendre le résidu par un acide N/10 et titrer l'excès d'acide par un alcali N/50.

HELFENBERG (2) fait dissoudre 4 gr. d'extrait sec dans 50 cc. d'alcool à 90°. Filtrer 25 cc. évaporer au bain marie; reprendre le résidu avec 50 cc. d'eau, ajouter 10 cc. de SO^4H^2 à 10 % et 5 cc. d'une solution d'iodure de potassium et de bismuth. Il se forme un précipité qu'on recueille sur un filtre et lave avec 2 à 5 cc. de SO^4H^2 à 15 %. On épuise le mélange avec 50 cc. d'éther et 10 gr. de CO^3Na^2 grossièrement pulvérisé. On prélève 25 cc. d'extrait éthéré ; on l'additionne d'une certaine quantité d'eau et on le titre à l'iodésine avec HCl N/100.

2° *Déplacement initial par un alcali.*

Dans ce groupe nous pouvons faire deux subdivisions suivant la nature de l'alcali :

1° *Déplacement au carbonate de soude.* H. KUNZ, MERCK.

2° *Déplacement à l'ammoniaque* GRIPPS, PUCKNER,
SCHESTOPAL, RUPP
et ZINNUS, LYONS
et JAVILLIER.

(1) BIRD. — Liquid extract of Belladonna. *Pharm. Journ. and Trans.* (4), VIII, 432, 1898.

(2) HELFENBERG. — Zur Bestimmung der Alkaloïde im Extractum Belladonnae und Hyoscyami siccum. *Helpfenberger Annalen*, XVIII, 166-167, 1905.

1° Procédé au carbonate de soude.

KUNZ (1) recommande la méthode suivante : On épuise l'extrait dilué de son volume d'eau, par l'alcool absolu. On distille l'alcool, on alcalinise le résidu par le carbonate de soude et on l'agite 4-5 fois avec de l'éther jusqu'à épuisement complet; les dernières traces d'alcaloïdes sont extraites par plusieurs agitations avec le chloroforme. On chasse l'éther et le chloroforme, les dernières traces éliminées par un courant rapide d'hydrogène sec à la température de 50°. Le résidu est épuisé par l'acide sulfurique dilué, la solution filtrée est alcalinisée par l'ammoniaque et épuisée par le chloroforme. On évapore le chloroforme, on élimine les dernières traces d'humidité par une dessiccation sur l'acide sulfurique et l'on pèse le résidu.

MERCK (2) fait dissoudre 4 gr. d'extrait dans 6 cc. d'eau. On transvase dans un flacon et on rince au moyen de 10 cc. d'eau. On ajoute 100 cc. d'éther ; agiter et additionner de 10 cc. de CO_3Na^2 à 25 %, agiter pendant 5 minutes. Laisser reposer 20 min., filtrer 75 cc. d'éther (au besoin ajouter, pour détruire l'émulsion, quelques grammes de poudre de gomme adragante). Evaporer au bain-marie à siccité la solution étherée correspondant à 1 gr. d'extrait ; reprendre par de l'éther et titrer par un acide N/100 avec l'iodésine comme indicateur.

Faire un essai à blanc et neutraliser l'alcalinité de l'eau et du verre par quelques gouttes d'acide très dilué.

2° Procédé à l'ammoniaque.

GRIPPS (3). Cette méthode est applicable à l'extrait fluide de Belladone. Introduire 10 cc. d'extrait fluide dans une ampoule

(1) H. KUNZ. — Ueber den Alkaloïdgehalt des Extractum Belladonnae, *Pharm. germ. II. Archiv der Pharmacie* (3), XXIII, 701-709, 1885.

(2) E. MERCK. — Weitere Beiträge. Zur Werthbestimmung officineller Extrae. *Bericht über das Jahr*, 195-206, 1900.

(3) GRIPPS. — Standardised preparations of Belladonna. *Pharm. Journ. and Trans.* (3), XXV, 793-796, 1894-1895.

à décantation, ajouter 10 cc. de chloroforme, 50 cc. d'eau et un excès d'ammoniaque. Agiter, séparer le chloroforme, épuiser encore deux fois par 10 cc. de chloroforme, agiter les extraits chloroformiques avec 5 cc. de SO^4H^2 dilué ; ajouter deux volumes d'eau chaude, séparer le chloroforme et le laver encore une fois avec de l'eau acidulée. Laver ensuite les solutions acides avec un peu de chloroforme, séparer ce dernier ; ajouter au liquide aqueux un excès d'ammoniaque et l'épuiser par trois fois avec 10 cc. CHCl^3 , le soutirer ensuite dans une fiole tarée et évaporer à sec. Dissoudre le résidu d'alkaloïdes dans 10 cc. de HCl N/20 et titrer l'excès d'acide par la soude N/100, en présence de méthylorange ou d'iodésine.

PUCKNER (1). Introduire 10 cc. de l'extrait fluide dans une ampoule à décantation ; ajouter 20 cc. de chloroforme, 10 cc. d'eau et 2 cc. d'ammoniaque à 10 %. Agiter, séparer le chloroforme, épuiser encore deux fois par 10 cc. de chloroforme, agiter les extraits chloroformiques avec 20 cc. et 10 cc. de HCl à 10 %. Laver ensuite la solution acide avec un peu de chloroforme, séparer ce dernier, ajouter au liquide aqueux un excès d'ammoniaque et l'épuiser par trois fois avec 10 cc. CHCl^3 , le soutirer dans une capsule tarée et évaporer à sec. Pour titrer, l'auteur reprend le résidu avec 5 cc. d'éther et quelques gouttes de cochenille, et ajouter un excès d'acide chlorhydrique N/20 ; après dissolution du résidu et évaporation de l'éther, il titre l'excès d'acide par la soude N/20.

SCHESTOPAL (2) fait dissoudre 2 gr. d'extrait dans 8 cc. d'eau et 2 cc. d'ammoniaque, épuiser complètement les alkaloïdes avec un mélange d'éther-chloroforme (3 p. CHCl^3 et 5 p. d'éther), évaporer ce solvant à 30-35°, reprendre le résidu avec 5-6 cc. d'eau et titrer avec HCl ou SO^4H^2 N/100 en présence d'hématoxiline.

(2) A. PUCKNER. — The alkaloidal value of Belladonna leaves. *Pharm. Review*, XVI, 324-328, 1898).

(1) SCHESTOPAL. — Zur Frage der Untersuchung narkotischer Extracte und über den schwankenden Gehalt an Atropine in Belladonna. *Extract Farmaz-Westius*, IV, 520, 1900. D'après *Chemisches Repertorium*, 356, 1900.

Procédé RUPP et ZINNIUS (1) :

Faire dissoudre 3 gr. d'extrait de Belladone dans respectivement 5-8 cc. d'eau chaude; additionner la solution refroidie de 90 gr. d'éther; mélanger, ajouter 1 gr. d'ammoniaque; agiter pendant 1/4 d'heure et laisser reposer. Filtrer 60 gr. d'éther sur un tampon de coton; évaporer l'éther; reprendre le résidu trois fois avec 5 cc. d'éther, et l'évaporer chaque fois au bain de vapeur pour chasser toute trace d'ammoniaque. Dissoudre le résidu dans quelques gouttes d'alcool chaud; ajouter 20 cc. d'acide N/100 et son volume d'eau. Si la solution est colorée, laver avec 5-10 cc. d'éther. Titrer ensuite l'excès d'acide par un alcali N/100 en présence d'iodéosine.

Dans le procédé de LYONS (2), on mélange 20 cc. d'acétate de plomb avec 150 cc. d'eau, et on ajoute 20 cc. de l'extrait fluide à doser en agitant continuellement; on complète avec de l'eau à 200 cc. et on filtre. Pour éviter un trop grand excès d'acétate basique, il est préférable de ne mettre que 15 cc. d'acétate de plomb et d'ajouter ensuite celui-ci par centimètre-cube jusqu'à ce que le mélange prenne un goût sucré (?) On additionne le filtrat d'un léger excès de phosphate de soude en poudre (1 gr.) et on filtre de nouveau, on recueille 100 cc. de solution correspondant à 10 gr. d'extrait. On alcalinise 2 cc. d'ammoniaque et on l'épuise avec 25 cc., 20 cc., 15 cc. de CHCl_3 . On évapore le chloroforme, on pèse le résidu et on titre ensuite.

JAVILLIER (3) a préconisé le dosage de l'atropine dans les extraits de Belladone par précipitation à l'état de silicotungstate qui consiste à traiter l'extrait par la méthode du Codex français; après avoir dosé les alcaloïdes dans la solution sulfurique, on les précipite par l'acide silicotungstique à 10 %. Pour cela on chasse l'éther au bain-marie, on acidifie avec de l'acide chlorhydrique à 2 % et on ajoute l'acide silicotungstique en

(1) E. RUPP et ZINNIUS. — Zur Alkaloidbestimmung in Belladonna, und Hyoscyamus Extrakten. *Pharm. Zeit.*, LIII, 737-738, 1908.

(2) B. LYONS. — Assay of fluid extract of Belladonna leaves. *Pharm. Review*, XXVI, 22-24, 1908.

(3) JAVILLIER. — Dosage de l'Atropine. Titrage des alcaloïdes dans les extraits de Belladone. *Bull. Sc. Pharm.*, XVII, 629-634, 1910.

proportion convenable, ce qui est rendu facile puisqu'on est renseigné par le premier dosage sur le titre alcaloïdique. Il importe de ne pas ajouter un excès de réactif. Il faut, en effet, deux fois et demie plus d'acide silicotungstique $\text{SiO}_2, 12 \text{ Wo}^3, 2 \text{ H}_2\text{O}$ qu'il n'y a d'atropine. Le précipité est recueilli sur un filtre sans plis. On lave à l'eau chlorhydrique à 1 % jusqu'à ce que les eaux de lavage ne donnent plus qu'un louche extrêmement faible avec une solution de sulfate d'atropine. Le filtre est séché à 100° puis calainé. Le résidu est pesé et son poids multiplié par le facteur 0,4064 donne le poids d'atropine correspondant. On augmente le chiffre trouvé de 0,0048 par 100 cc. du liquide dans lequel s'est effectué la précipitation, pour tenir compte de la solubilité du silicotungstate d'atropine.

Les méthodes de dosage dans lesquelles le déplacement initial est fait par un acide, sont presque abandonnées ; on n'utilise plus guère que les secondes.

CHAPITRE II.

Nous avons tout d'abord voulu comparer les méthodes de dosage précédentes, divisés arbitrairement en deux groupes, suivant que le déplacement des alcaloïdes était fait soit par un acide, soit par un alcali. L'on a pu constater que les résultats trouvés étaient différents selon la méthode employée; les écarts peuvent atteindre 25 à 30 % même dans chacun des groupes. Toutefois on peut remarquer que certains dosages de la première série correspondent à ceux de la seconde. En examinant d'un peu plus près, on constate que les chiffres les plus faibles sont donnés par les méthodes dans lesquelles l'extract alcaloïdique est évaporée à l'étuve avant d'être repris par la solution acide.

Ce n'est donc pas dans le point de départ qu'il faut chercher la cause de ces divergences, mais dans les diverses opérations se succédant au cours des manipulations.

Pour rendre plus compréhensible cet exposé nous nous garderons bien de donner nos résultats globaux, mais nous grouperons ces analyses de façon à mieux faire ressortir le fait qui produit des écarts si considérables. Dans une première série d'analyses nous comparerons les méthodes de SCHWEISSINGER, de KUNZ, de SCHESTOPAL, puis de RUPP et ZINNIUS. Les résultats sont consignés dans le tableau suivant :

	PROCÉDÉ SCHWEISSINGER	PROCÉDÉ. KUNZ	PROCÉDÉ SCHESTOPAL	PROCÉDÉ RUPP et ZINNIUS
	Alcaloïde 0/0	Alcaloïde 0/0	Alcaloïde 0/0	Alcaloïde 0/0
Extrait n° 1	1,965	2,00	2,35	2,11
Extrait n° 2	2,756	2,93	2,88	2,83

Ainsi donc les résultats donnés par ces méthodes sont concordants.

Dans une seconde série d'analyses nous avons comparé les méthodes de WILSON et BIRD du premier groupe avec celles de MERCK, GRIPPS, PUCKNER du second groupe.

Nous indiquons les résultats dans le tableau ci-dessous :

	PROCÉDÉ WILSON	PROCÉDÉ BIRD	PROCÉDÉ MERCK	PROCÉDÉ GRIPPS	PROCÉDÉ PUCKNER
	Alcaloïde 0/0	Alcaloïde 0/0	Alcaloïde 0/0	Alcaloïde 0/0	Alcaloïde 0/0
Extrait n° 1.	1,80	1,65	1,51	1,67	1,72
Extrait n° 2.	2,59	2,48	2,58	2,63	2,66

Nous retrouvons ici la même concordance entre les procédés des deux groupes. Il y a bien des variations, mais elles n'atteignent jamais les écarts constatés entre les différents dosages des deux séries d'expériences.

Le chauffage à l'étuve provoque donc une perte d'alcaloïde. Nous avons alors institué une série d'expériences pour nous fixer sur ce point.

Nous avons fait quatre séries de dosages conduits de la façon suivante :

Dans une première série, nous avons suivi textuellement la méthode du Codex français.

Dans une seconde série, nous avons remplacé la solution de CO^3Na^2 par 10 centimètres cubes d'ammoniaque dilué au 1/4.

Les troisième et quatrième séries correspondent aux première et deuxième séries, mais les solutions éthéro-chloroformiques ont été d'abord évaporées à sec, puis maintenues à l'étuve à eau à 100° pendant 3/4 d'heure. On a ensuite repris le résidu par quelques centimètres-cubes de chloroforme en plusieurs fois puis finalement par de l'éther en quantité déterminée de façon que la solution éthéro-chloroformique corresponde au mélange ayant servi à l'extraction primitive.

Voici les résultats obtenus :

DÉPLACEMENT PAR CO_3Na^2		DÉPLACEMENT PAR AZH^3		
sans évaporation	avec évaporation	sans évaporation	avec évaporation	
Extrait n° 1 (*)	α 2,73	2,39	2,58	2,27
	β 2,63	2,37	2,40	2,28
	γ 2,64	2,38	2,55	2,24
	3,23	2,95	3,06	2,29
Extrait n° 2				

(*) L'analyse du premier extrait a été faite par trois opérateurs différents.

Ainsi donc, il n'y a aucun doute : c'est le chauffage à 100° qui produit cette diminution du taux des alcaloïdes. On ne peut concevoir cette perte que par une altération de l'atropine ou par le départ d'un alcaloïde volatil existant dans l'extrait de Belladone. C'est à la seconde hypothèse que l'on doit se rallier. Si en effet, au lieu de laisser le résidu alcaloïdique à l'étuve pendant $3/4$ d'heure, nous l'y maintenons pendant plusieurs heures, le chiffre trouvé ne varie pas, ce qui ne se produirait pas si l'on devait attribuer la diminution du titre des alcaloïdes à une altération de l'atropine. Il est bien certain que l'altération produite pendant la première demi-heure irait se continuant et que l'on trouverait alors des chiffres de plus en plus faibles, or il n'en est rien.

Après $3/4$ d'heure d'étuve à 100°	2,28 $\frac{0}{0}$
Après 1 heure $1/2$ d'étuve à 100°	2,28 $\frac{0}{0}$
Après 2 heures d'étuve à 100°	2,29 $\frac{0}{0}$

Mais il faut toutefois avoir grand soin de ne pas dépasser la température de 100° ; car si nous opérons la dessiccation dans une étuve à huile à la température de 115° (point de fusion de l'atropine), on constate, au bout d'une heure, une diminution

notable du chiffre des alcaloïdes et on trouve par exemple dans les dosages précédents 1,68 % dans le traitement CO_3Na^2 , 1,57 % pour le traitement à l' AzH^3 .

Ainsi donc nous arrivons à cette constatation que dans l'extrait de Belladone, à côté de l'atropine et de l'hyoscyamine, se trouvent un ou des alcaloïdes volatils.

Au point de vue théorique, nous en déduisons que le coefficient adopté de 0,00289 ne correspond pas à la réalité des faits et que ce coefficient devrait être moins élevé pour exprimer le pourcentage réel des alcaloïdes. Mais pour conserver à ce coefficient sa valeur exacte, il faudrait connaître cet alcaloïde volatil et par suite son poids moléculaire. En l'absence de cette donnée, il n'y a aucun inconvénient à conserver provisoirement ce chiffre de 0,00289, en se rappelant toutefois que la quantité *d'alcaloïdes totaux* exprimée est légèrement supérieure à ce qu'elle est en réalité.

Au point de vue pratique les conséquences sont plus importantes. Lorsqu'on examine les méthodes de dosage adoptées par les différentes pharmacopées, on constate que les unes recommandent la dessiccation à l'étuve du résidu éthéro-chloroformique, tandis que les autres se bornent à reprendre cette solution éthéro-chloroformique par la solution titrée d'acide sulfurique N/100. Les unes effectuent le déplacement par le CO_3Na^2 (France, Belgique, Autriche, Allemagne), les autres préfèrent l' AzH^3 (Suisse, Hollande, Angleterre, États-Unis). Le choix des alcalis n'aurait pas grande importance en lui-même. Lorsqu'on emploie le carbonate de soude il faut avoir soin de laisser séparer complètement les liqueurs avant d'opérer la filtration, de façon à éviter que des gouttelettes de la solution de CO_3Na^2 ne soient entraînées sur le filtrat. Dans le procédé à l' AzH^3 , il faut veiller à ce que tout l' AzH^3 soit éliminé avant de faire le dosage. On pourrait faire cette élimination par évaporation ménagée de la solution éthéro-chloroformique, mais pour être bien certain que toute trace d' AzH^3 a disparu, les pharmacopées recommandent la dessiccation à l'étuve à 100°. L'emploi de l' AzH^3 pour effectuer le déplacement des alcaloïdes, qui n'a aucune importance en lui-même, nous entraîne forcément à une technique différente de celle employée

lorsque le déplacement est fait avec le CO^3Na^2 ; de là des différences assez considérables ainsi que le montre le tableau suivant :

	CARBONATE DE SOUDE			AMMONIAQUE	
	Française	Belge	Allemande	Helvétique	Anglaise
Extrait n° 1..	2,65	2,68	2,48	2,13	2,07
Extrait n° 2..	3,29	3,27	2,92	2,80	2,70

Dans les méthodes au carbonate de soude où l'on effectue la dessiccation du résidu éthéro-chloroformique à 100° avant de faire le dosage titrimétrique (Codex allemand...), les résultats trouvés sont toujours supérieurs à ceux des méthodes correspondantes où l'on emploie l' AzH^3 , mais inférieurs aux chiffres trouvés dans les méthodes au Carbonate de soude dans lesquelles l'extrait éthéro-chloroformique est directement repris par la solution titrée acide. C'est ainsi que le chiffre trouvé ici 2,48 est intermédiaire entre 2,65 et 2,08; de même, dans nos essais précédents, nous avons trouvé 2,38, intermédiaire entre 2,64 et 2,24.

Mais nous ne savons pas pour le moment à quoi il faut attribuer cette différence. Ainsi donc, entre les procédés type français et le procédé type anglais, il y a une différence de 20 à 25 %. Les premiers expriment leurs résultats en alcaloïdes totaux (atropine, hyoscyamine + alcaloïde volatil). Les seconds ne donnent qu'un chiffre correspondant à l'atropine et l'hyoscyamine. Lequel doit-on préférer ? Si l'on se place au point de vue d'un fabricant d'alcaloïdes qui veut réellement se rendre compte de la valeur marchande d'un extrait, il est évident que la seconde méthode est seule acceptable. Mais au point de vue pharmaco-dynamique, il semble bien que la première s'impose. Ne connaissant pas la nature de l'alcaloïde volatil, nous ne savons rien de ses propriétés thérapeutiques; et exprimer la

valeur d'un extrait en atropine, c'est faire abstraction d'un principe qui, peut-être, possède une action physiologique intéressante, importante même. Rien ne nous permet d'affirmer que l'action de l'extrait de Belladone est toute entière conditionnée par sa teneur en atropine ou hyoscyamine. Bien au contraire, tout ce que nous savons sur l'action médicamenteuse des drogues nous permet d'affirmer qu'à côté des principes actifs connus il en existe d'autres jusqu'alors non isolés qui impriment aux plantes ou aux préparations galéniques qui en dérivent une action physiologique toute différente de celle des alcaloïdes définis isolés de ces plantes.

Au point de vue international, il serait indispensable d'adopter un dosage uniforme. Peu importe que l'on adopte l'un ou l'autre de ces procédés, le principal est de choisir et d'unifier les méthodes d'analyses. En 1911, le XI^e Congrès de Pharmacie, qui se tenait à Bruxelles, reconnaissait, à la suite du rapport du D^r SCHAMELHOUT, la nécessité de l'unification internationale des méthodes d'analyse des médicaments.

Une mesure du même ordre concernant l'unification *du titre* des médicaments avait déjà été proposée, puis réalisée en partie pour un certain nombre de préparations, dites héroïques, à la suite de la Conférence internationale de 1902 ; mais elle n'atteignait qu'un nombre restreint de médicaments actifs, pour la thérapeutique desquels une réglementation étroite s'imposait. Mais il ne suffit pas d'assigner à une drogue un titre fixe, ni même de rendre cette obligation internationale, il faut de plus (pour obtenir des résultats comparables) unifier les procédés analytiques. Cette question soulevée déjà bien souvent et reprise à propos par le D^r SCHAMELHOUT, n'a pas encore reçu de solution satisfaisante. On a déjà signalé (1) les différences de 7 à 8 % dans le dosage des alcaloïdes de l'extrait de noix vomique, suivant que le procédé employé est emprunté au Codex français ou au Codex belge ; dans l'essai de la Fougère mâle, on constate un écart de 30 à 40 %, suivant que l'on emploie successivement le procédé du Codex suisse ou bien ce

(1) A. GORIS et WIRTH. — A propos de l'extrait de noix vomique et de l'unification des méthodes d'analyse. *Bull. de Pharm.*, XVII, 515-520, 1910,

procédé modifié de façon à en éviter les inconvénients manifestes (2). Le nouvel exemple que nous montre aujourd'hui le titrage de l'extrait de Belladone vient donc confirmer cette nécessité d'unifier les méthodes d'analyse. Si l'unification est intéressante au point de vue thérapeutique, elle ne l'est pas moins au point de vue commercial. Le fabricant d'atropine ne peut se contenter d'un dosage fait selon le procédé du Codex français alors que le pharmacologue (et c'est notre opinion) doit précisément évaluer la qualité de son produit d'après cette méthode de dosage.

(2) A. GORIS et M. VOISIN. — A propos de l'extrait éthéré de Fougère mâle et de l'unification des méthodes d'analyse. *Bull. de Pharm.*, XIX, 705-710, 1912.

TROISIÈME PARTIE.

CHAPITRE PREMIER.

Variation des alcaloïdes dans les plantes de culture sous l'influence de différents facteurs.

Les recherches sur le rôle des engrais et sur celui des conditions atmosphériques ou climatériques dans la culture des plantes médicinales et leur teneur en alcaloïdes sont encore peu nombreuses. Toutefois dans ces dernières années CHEVALIER dans les cultures de FOUCHER, RANSON et HENDERSON dans les cultures de WELLCOME, GORIS dans les cultures de DAUSSE ont tenté d'étudier l'influence des engrais.

J. CHEVALIER (1) a montré le rôle des engrais, dans les conditions suivantes. Les chiffres obtenus par cet auteur prouvent nettement l'action prépondérante des différents engrais :

Belladone provenant d'un champ témoin avec travail et fumure habituels.....	0,320 à 0,320 ‰
Belladone provenant d'un champ fumé avec acide phosphorique et potasse.....	0,480 à 0,490 ‰
Belladone provenant d'un champ fumé avec des engrais azotés (azotate de potasse).....	0,676 à 0,680 ‰
Belladone provenant d'un champ fumé avec des engrais azotés et des fumures de ferme.....	0,756 ‰

(1) J. CHEVALIER.— Influence de la culture sur la teneur en alcaloïdes de quelques Solanées, *C. R. A. S.*, CL, 344, 1910.

Le *Datura* renfermait 0,20 % au lieu de 0,10 à 0,125 % ; et la *Jusquiame* 0,286 % au lieu de 0,07 à 0,18 % dans les champs non fumés.

On voit donc que l'emploi de fumier de ferme et d'azotate de potasse a fait doubler le rendement en alcaloïdes, tandis que les fumures potassiques et phosphoriques employées seules ont produits moins d'effet.

A. GORIS (1) a pu également constater une augmentation d'alcaloïdes sous l'influence des engrais dans des conditions analogues :

Belladone provenant d'un terrain fumé avec superphosphates et engrais radioactifs donne un extrait titrant.....	3,11 %
Belladone provenant d'un terrain fumé avec superphosphates seulement.....	2,6 %
Belladone provenant d'un terrain non fumé.....	2,21 %

Le rendement en extrait pour chaque série de plantes était sensiblement comparable 23,54 — 23,43 — 23,38 pour cent, de sorte que la teneur alcaloïdique des feuilles est comparable avec celle des extraits qui en proviennent.

Des résultats analogues ont été publiés par RANSON et J. HENDERSON (2) ; le tableau suivant (page 45) nous donnera le pourcentage en alcaloïdes dans les plantes cultivées dans différentes conditions.

VREVEN et SCHREIBER (3) ont également étudié l'influence des éléments nutritifs essentiels sur la croissance et sur la teneur des alcaloïdes totaux de la *Belladone*. Ces auteurs pensaient tout d'abord conformément à une idée ancienne que les *Belladones* sauvages, ayant elles mêmes fait élection du terrain, étaient plus actives que les *Belladones* cultivées. Les expériences de M. CHEVALIER, relatées plus haut, les incitèrent à expérimenter séparément l'emploi des engrais azotés, phosphatés et potassiques pour la culture de cette Solanée.

(1) A. GORIS. — Localisation et rôle des alcaloïdes et des glucosides chez les végétaux. Paris, 2^e édit., 185, LE CHEVALIER, 1914.

(2) F. RANSON et J. HENDERSON. — The effect of Cultivation and Fertilisers on the Growth of the Plant and its alkaloid Content, *The Chemist and Druggist*, LXXXI, 432-434, 1912.

(3) VREVEN et SCHREIBER. — De l'influence des éléments nutritifs essentiels sur la croissance et sur la teneur en alcaloïdes totaux de l'*Atropa Belladonna*, *Ann. de Pharm.*, RANWEZ, XVII, 97, 1911.

ENGRAIS	ÉPOQUE de l'épandage	POUR 40 acres (**)	1906 3 ^e année	1907 (*) 4 ^e année	1910 1 ^{re} année	1911 2 ^e année	1912 3 ^e année
O	»	»	0,54	0,34	0,61	0,59	0,68
Fumure de ferme.	Mars	50 charges	0,54	0,34	0,61	0,59	0,71
Nitrate.	Mars-Avril	100 kilos	0,52	0,23	0,54	0,46	0,64
Cyanamide.	Avril	50 id.	»	»	0,69	0,49	0,75
Scories basiques.	—	100 id.	0,61	»	0,65	0,56	0,84
Superphosphates.	—	254 id.	0,66	»	0,81	0,49	0,76
Potasse.	—	254 id.	0,61	0,40	0,75	0,52	0,69

(*) L'année 1907 a été mauvaise au point de vue climatérique.

(**) L'acre correspond à 0 h. 40/6.

Ils reprirent alors, dans des conditions expérimentales plus rigoureuses, les essais culturaux de CHEVALIER. Ces essais avaient été faits en ajoutant des engrais azotés, phosphatés et potassiques à des sols déjà riches en ces engrais grâce à la fumure dont ils étaient imprégnés. Il n'était plus, dès lors, possible de suivre séparément l'influence des divers éléments nutritifs essentiels sur la Belladone et encore moins de connaître la perturbation que devait produire dans la végétation, l'absence ou l'insuffisance de l'un ou de l'autre de ces éléments.

M. CHEVALIER dit que l'addition des engrais phosphatés et potassiques ne paraît pas influencer bien sensiblement la Belladone. Mais on peut se demander si l'acide phosphorique et la potasse manquaient réellement dans les sols expérimentés, et si la quantité d'azote contenue dans les champs témoins était suffisante pour permettre à l'acide phosphorique et à la potasse de donner tous leurs effets.

VREVEN et SCHREIBER ont donc refait une série d'essais en employant une terre limoneuse de consistance moyenne, *l'alluvion de la Herck*.

Cette terre est pauvre en acide phosphorique et faiblement pourvue d'azote et de potasse absorbables. La chaux et la magnésie comme éléments n'y manquent pas.

Les excellentes propriétés physiques de ce sol, et la pauvreté en ces trois éléments essentiels : Az—Ph. et K font que cette terre constitue un bon choix pour les recherches à effectuer. Chacune des expériences fut faite dans des vases de végétation contenant 22 kilog. de terre à laquelle on ajouta les éléments chimiques à essayer. Pour éviter l'influence de l'individualité, chaque essai fut fait en double et les plantes furent réunies à la récolte.

Il y eut deux cueillettes : la première fut effectuée au fur et à mesure que les plantes arrivaient au début de la floraison ; la seconde fut faite le 1^{er} septembre pour toutes les plantes à la fois.

Les résultats concernant le rôle des matières nutritives ajoutés aux différents vases sont consignés dans le tableau suivant :

Belladones de deux ans d'âge.

NUMÉROS D'ORDRE des essais	MATIÈRES NUTRITIVES AJOUTÉES AU CONTENU DE CHAQUE VASE DE VÉGÉTATION (C'EST-A-DIRE A 22 KILOGRAMMES D'ALLUVION DE LA HERCK).	PREMIÈRE RÉCOLTE faite au début de la floraison				DEUXIÈME RÉCOLTE faite le 1 ^{er} septemb.		RENDEMENT en racines tenlevées après la seconde récolte).	
		RENDEMENT		Date du début de la floraison	Pourcentage des f. uilles sèches en alcaloïdes	Rendement en feuilles sèches	Pourcentage des feuil.s sèches en alcaloïdes		
		En herbe totale fraîche	En feuilles sèches sur la chaux vive						
									grammes
1-2	Engrais complet { 10 gr. Nitrate ammoniacque.. 12 gr. Phosphate bisodique.. 5 gr. Carbonate potassique.. 4 gr. Carbonate calcique.. 4 gr. Carbonate magnésique.. — moins le carbonate magnésique — moins le carbonate calcique.. — avec 12 gr. carbonate calcique.. — moins carbonate potassique.. — moins phosphate bisodique.. — moins nitrate ammoniacque.. — avec 5 gr. nitrate ammoniacque.. — avec 15 gr. nitrate ammoniacque Sans addition d'engrais.....	377	20,50	15 juin	0,704	36	0,298	56,50	38,50
3-4		390	22,50	id.	0,637	37	0,318	59,50	39,50
5-6		440	26,50	id.	0,700	40	0,400	66,50	46,50
7-8		367	24,50	id.	0,632	46	0,338	70,50	44,50
9-10		172	11,25	id.	0,786	7 (1)	0,590 (1)	18,25	2,50
11-12		171	22, 28 juin 31 août	28 juin 31 août	0,514	9 (2)	0,306 (2)	31, 16,	16,
13-14		201	22, 2 août	2 août	0,413	6	—	28,	10,50
15-16		290	17,50	15 juin	0,534	38	0,264	55,50	25,50
17-18		405	28,	id.	0,630	44	0,298	72,	48 50
19-20		Les plantes ont péniblement végété et sont mortes au bout de quelques jours.							

(1) La plante n° 10 a péri après la première récolte ; les résultats se rapportent à la plante de l'essai n° 9.

(2) La plante n° 12 vient de donner la première récolte ; les résultats indiqués se rapportent à la plante n° 11.

De leurs résultats VREYEN et SCHREIBER tirent des conclusions, d'une part, au point de vue de la végétation de la plante, et, d'autre part, au point de vue de la richesse alcaloïdique des feuilles.

Au point de vue de la végétation :

1° La Belladone s'est montrée très sensible à l'action de l'acide phosphorique, de l'azote et particulièrement de la potasse. Le manque de ces éléments se traduit par une forte dépression dans le rendement ;

2° Les plantes cultivées dans les vases non additionnés d'engrais ont péri rapidement ;

3° La dépression dans le rendement a été beaucoup plus accentuée pour les racines que pour les autres organes de la plante ;

4° L'époque de la floraison s'est trouvée retardée par l'absence d'azote et de phosphore, mais non par celle de potasse ;

5° Les plantes privées d'azote, de phosphore et de potasse présentaient un aspect ou une coloration caractéristiques. A défaut d'azote, elles étaient chlorotiques ; l'absence de phosphore se traduisait par une teinte violacée des feuilles et particulièrement des nervures. Les plantes dépourvues de potasse étaient flasques et l'une d'elles, fait fréquent en ces circonstances, a péri.

Au point de vue de la richesse alcaloïdique des feuilles :

1° Les feuilles de Belladone, cultivées en terre pauvre en azote ou en phosphore, renferment peu d'alcaloïdes et leur teneur alcaloïdique augmente notablement avec l'enrichissement du sol en matières azotées ;

2° Les feuilles de Belladone cultivées en l'absence de sels potassiques sont, par contre, riches en alcaloïdes.

L'alluvion de la Herck, comme nous l'avons dit plus haut, renferme la chaux et la magnésie en quantités suffisantes. Il n'est donc pas étonnant que l'augmentation de ces éléments n'ait guère apporté de variation, ni dans la teneur alcaloïdique de la Belladone, ni dans le rendement.

Ainsi donc, contrairement à l'opinion de CHEVALIER, les engrais phosphoriques et potassiques employés simultanément dans ses essais et qui s'étaient montrés actifs pour amener une augmentation de la teneur alcaloïdique des feuilles agissent cependant en sens contraire lorsqu'on les utilise séparément.

Ces divergences n'ont rien qui puissent nous étonner, car dans ces questions de rendement en principe actif, la nature de l'engrais n'intervient pas seule. Il y a d'autres facteurs dont il est parfois facile, mais, dans certains cas, impossible de constater les effets.

Francis RANSON et J. HENDERSON (1) ont très justement fait remarquer le rôle possible de ces différents facteurs dont l'influence nous échappe à première vue. C'est ainsi qu'un sol contenant de la potasse sous une forme peu assimilable, reçoit du nitrate de soude avec d'excellents résultats, on en conclut que le nitrate en est la cause. Ce n'est pas tout à fait exact, car il ne l'est que d'une façon indirecte. Le nitrate de soude *a rendu la potasse utilisable*, alors qu'elle ne l'était pas et, par suite d'une double réaction complexe, très certainement, la potasse est absorbée par la plante. L'effet produit est attribué au nitrate, et ce n'est que par des essais comparatifs, chez lesquels le nitrate ne produit pas le même effet, que le doute s'élève sur l'exactitude de la conclusion primitive.

Il faut également faire intervenir l'état physique du terrain. Le terrain est-il exposé à un vent froid ou chaud ? le sol est-il friable ? constitué d'argile lourde ou de terre glaise ? est-il chaud et humide ou froid et rempli d'eau ?

Pour RANSON et HENDERSON, ces facteurs jouent un rôle important, plus important même, dans la physiologie de la plante et son métabolisme, que les fumures dont on la nourrit artificiellement. On peut facilement contrôler l'action produite par la composition d'un sol, son exposition, la nature de son drainage ; on peut y remédier dans une certaine mesure, mais on ne peut guère intervenir pour protéger les cultures du vent, les abriter du soleil, ou les irriguer quand les conditions l'exigent.

(1) Francis RANSON et J. HENDERSON. — The effect of Cultivation and Fertilisers on the Growths of the Plant and its Alkaloidal Content. *The Chemist and Druggist*, LXXXI, 443-445, 1912.

RANSON et HENDERSON constatent, dans leurs expériences, que ce sont les cultures non fumées, mais entièrement exposées au soleil, qui renferment la proportion la plus forte d'alcaloïdes.

Le rôle des conditions climatiques est incontestable. On sait, depuis longtemps, que la Cigüe poussée en Ecosse, renferme peu d'alcaloïdes. VOGEL (1886) (1) a fait voir que les Quinquinas cultivés en serre, renfermaient peu ou pas d'alcaloïdes (2). DUNSTAN (3) a montré que l'*Hyoscyamus muticus* L. d'Egypte renferme de 0,6 à 1,2 p. 100 d'alcaloïdes, tandis que celui de l'Inde ne titre que 0,3 à 0,4 p. 100. Des données plus précises ont pu être rassemblées depuis que l'on s'occupe méthodiquement de la culture des plantes médicinales ; c'est ainsi que le tableau suivant (4) nous donne la teneur en alcaloïdes des feuilles de Belladone durant les années 1905 à 1912, pendant lesquelles on a relevé les heures de soleil et la hauteur des pluies.

ANNÉES	ALCALOÏDES	TOTAL DES HEURES	HAUTEUR
		DE SOLEIL du 1 ^{er} Mai au 30 Juin	DE LA PLUIE du 1 ^{er} Mai au 30 Juin
	pour 100		en centimètres
1905.....	0,38	387	13,5
1906.....	0,54	361	9,65
1907.....	0,34	290	8,85
1909.....	0,48	387	13,60
1910.....	0,61	360	10,20
1911.....	0,59	404	9,05
1912.....	0,68	Saison très sèche et ensoleillée.	

(1) A. VOGEL. — Zur chemischen Wirkung des Lichts. *Sitz. Münch. Akad.*, I, 1885 ; analyse : *Chem. Centralbl.*, XVI, 756, 1885.

(2) Cette assertion n'est pas tout à fait exacte : les quinquinas cultivés en serre renferment de l'alcaloïde ; mais ils en renferment évidemment moins que ceux cultivés en pleine terre dans les pays chauds.

(3) DUNSTAN. — *Bull. Imp. Institut.*, 222, 1906.

(4) RANSON et HENDERSON. — *The Chemist and Druggist*, loc. cit., 1912.

On voit donc que les plus hauts pourcentages ont été observés dans les saisons les plus sèches et les plus ensoleillées, tandis qu'en 1905 et 1907, années où il y a eu de fortes pluies ou peu de soleil, la teneur était presque de moitié plus faible.

L'auteur a également suivi la variation des alcaloïdes durant une saison et il a pu observer qu'il n'y a pas de variation bien importante de juin à septembre, pourvu toutefois que les conditions climatiques ne changent pas.

1905. ° Temps très humide	Moût.....	0,32 % (1)
1905. —	Septembre ..	0,35 —
1906. Temps très beau, très sec...	Juillet.....	0,54 —
1906. —	Octobre.....	0,64 —
1907. Temps sombre et humide...	Juin.....	0,33 —
1907. —	Moût.....	0,33 —
1909. Temps très beau et sec.....	Juin.....	0,44 —
1909. —	Septembre..	0,48 —

La lumière solaire semble donc jouer un rôle important dans la formation des composés alcaloïdiques ; UNGER (2) avait constaté un fait analogue : des feuilles de Belladone, poussées à l'ombre, contenaient 0,35 p. 100 d'alcaloïdes et 13,34 p. 100 de cendres ; tandis que, dans des feuilles développées en plein soleil, il trouve 0,40 p. 100, avec 15,67 p. 100 de cendres

On voit donc que nous sommes loin de l'opinion ancienne qui admettait la supériorité des plantes sauvages sur les plantes cultivées. Il est hors de doute que l'on peut, par une culture raisonnée, obtenir des rendements plus élevés en alcaloïdes. Est ce à dire que l'on ne pourra pas encore accentuer cette différence ? Cela est très probable.

MILLER (3) fait remarquer que les améliorations obtenues sont dues plus au changement de milieu et à la suppression des espèces végétales concurrentes dans le voisinage qu'à une

(1) RANSON et HENDERSON. — *The Chemist and Druggist*, loc. cit., 1912.

(2) C'est là un point intéressant pour la culture, car on peut faire la récolte des feuilles durant toute la saison de juin à septembre, mais de préférence toutefois par un temps sec et ensoleillé et avant que les plantes ne commencent à se faner ; dès que la plante se fane, l'alcaloïde diminue, soit qu'il disparaisse, soit qu'il émigre vers la racine (?)

(3) A. MILLER. — *The improvement of medicinal plants (Pharm. Journ. and Trans. (4 s.), XXXV, 367-369, 1912).*

méthode rationnelle de culture. Celle-ci selon lui est encore à trouver. Il est incontestable que la sélection des graines et des plantes, l'isolement des variétés favorables, les essais d'hybridation et de greffage, l'étude méthodique des conditions de sol et de climat, permettront encore d'augmenter la teneur en alcaloïdes des végétaux.

On voit combien il est encore difficile de fixer des méthodes pour une culture raisonnée des plantes à alcaloïdes et en particulier des Solanacées. Trop de facteurs interviennent et nous ne connaissons que très imparfaitement leur rôle. C'est à dégager l'action de chacun d'eux que nous devons nous attacher. Le problème est délicat, mais mérite de retenir notre attention par l'importance pratique tout autant que théorique des résultats obtenus.

CHAPITRE II.

Malgré la complexité de cette question, nous avons voulu, sur les conseils de M. GORIS, étudier l'action des différents facteurs :

Altitude, climat, humidité du sol, action des engrais sur la culture de la Belladone.

En premier lieu, nous avons voulu nous rendre compte de la marche des alcaloïdes, au cours d'une année culturale, dans les différentes récoltes effectuées pendant la période de juin à novembre.

Ces essais ont été faits dans les *Cultures Dausse*, à Etrechy. La plante s'était développée dans une bonne terre à blé qui avait été fumée avec de la gadoue.

Voici les résultats :

NUMÉROS des récoltes	ALCALOÏDES pour 100 gr. de Poudre	EXTRAIT pour 100 gr. de Poudre	ALCALOÏDES pour 100 gr. d'Extrait
1	0,75	20,30	3,69
2	0,84	19,80	4,24
3	0,60	19,70	3,04
4	0,45	16,40	2,68

1^{re} Récolte. — 100 gr. de poudre au titre de 0,75 $\frac{0}{0}$ donnent 20 gr. 30 d'extrait contenant 3,69 $\frac{0}{0}$ d'alcaloïdes.

2° *Récolte*. — 100 gr. de poudre au titre de 0,84 $\frac{0}{10}$ donnent 19 gr. 80 d'extrait contenant 4,24 $\frac{0}{10}$ d'alcaloïdes.

3° *Récolte*. — 100 gr. de poudre au titre de 0,60 $\frac{0}{10}$ donnent 19 gr. 70 d'extrait contenant 3,04 $\frac{0}{10}$ d'alcaloïdes.

4° *Récolte*. — 100 gr. de poudre au titre de 0,45 $\frac{0}{10}$ donnent 16 gr. 40 d'extrait contenant 2,68 $\frac{0}{10}$ d'alcaloïdes.

Ainsi donc, la récolte la plus riche a été celle qui s'est développée en juillet et commencement d'août, c'est-à-dire pendant les mois ensoleillés, ce qui est conforme à l'hypothèse d'HENDERSON.

Nous avons voulu ensuite étudier le rôle des engrais pour aborder ensuite celui des éléments chimiques séparément.

Des expériences furent faites à Bagnères-de-Bigorre, sur les indications de M. GORIS, qui introduisit la culture des plantes médicinales dans ce pays. Le choix de cette région était intentionnel. M. GORIS voulait nous faire étudier l'action de l'altitude sur la végétation et la teneur alcaloïdique des feuilles de Belladone.

Les essais culturaux les plus importants de Bagnères-de-Bigorre, étaient situés à une altitude de 560 mètres. C'était la station culturale la plus basse, celle qui devait servir de culture-témoin. Des ensemencements ont été répétés à diverses altitudes dans des terrains et des expositions différentes, mais bien que les premiers résultats ne soient pas encourageants, ils ont été repris cette année avec l'espoir d'une solution plus satisfaisante. Les essais de Bagnères furent nombreux et surveillés avec un soin méticuleux, une patience inlassable par Th. BOUGET, dont nous ne voudrions pas méconnaître le dévouement et à qui nous sommes heureux d'adresser nos remerciements.

Les graines ont été semées sous chassiss et repiquées dans des planches contenant différents terrains additionnés d'engrais variés.

On a utilisé le limon d'argile, le terreau de feuilles, le terreau de bois, le terreau de matières organiques additionnées de différents fumiers. Nous relaterons ici les résultats de nos analyses :

N° 1. Limon d'argile pur, avec fumure (fumier de cheval).

100 grammes de poudre au titre de 0 gr. 412 donnent 23 gr. 20 d'extrait contenant 1 gr. 775 d'alcaloïdes $\frac{0}{10}$.

N° 2. Mélange d'argile et de terreau provenant de matières organiques avec fumure (fumier de cheval).

100 grammes de poudre au titre de 0 gr. 312 donnent 26 gr. 48 d'extrait contenant 1 gr. 178 d'alcaloïdes $\frac{0}{100}$.

N° 3. Terreau pur de matières organiques avec beaucoup de silice et fumure très abondante (fumier de mouton).

(Végétation très rapide, vigoureuse, cinq coupes).

100 grammes de poudre au titre de 0 gr. 604 donnent 34 gr. d'extrait contenant 1 gr. 778 d'alcaloïdes $\frac{0}{100}$.

N° 4. Terreau de matières organiques (comme le n° 3) avec beaucoup de silice et avec fumure (fumier de cheval).

(Beaucoup de fumier, belle végétation).

100 grammes de poudre au titre de 0 gr. 661 donnent 30 gr. 76 d'extrait contenant 2 gr. 149 d'alcaloïdes $\frac{0}{100}$.

N° 5. Terreau pur de matières organiques (sans aucune fumure).

100 grammes de poudre au titre de 0 gr. 249 donnent 28 gr. 30 d'extrait contenant 0 gr. 879 d'alcaloïdes $\frac{0}{100}$.

N° 6. Terreau pur de matières organiques mélangé avec terre de jardin (fumier de cheval).

100 grammes de poudre au titre de 0 gr. 347 donnent 25 gr. 40 d'extrait contenant 1 gr. 37 d'alcaloïdes $\frac{0}{100}$.

N° 7. Très mauvaise terre de jardin avec fumure (fumier de cheval).

100 grammes de poudre au titre de 0 gr. 281 donnent 28 gr. 26 d'extrait contenant 0 gr. 996 d'alcaloïdes $\frac{0}{100}$.

N° 8. Terreau de feuilles pur, avec fumure peu abondante (fumier de vache).

100 grammes de poudre au titre de 0 gr. 4053 donnent 32 gr. 50 d'extrait contenant 1 gr. 247 d'alcaloïdes $\frac{0}{100}$.

N° 9. Terreau de bois, de sciures, très décomposé, sans silice avec fumure abondante (fumier de vache).

(Végétation très forte, produisant de très grandes feuilles jusqu'à 0 m. 40 de longueur).

100 grammes de poudre au titre de 0 gr. 308 donnent 31 gr. 76 d'extrait contenant 0 gr. 98 d'alcaloïdes $\frac{0}{100}$.

N° 10. Terreau de bois, de sciures, bien décomposé (comme le n° 9) sans silice ; fumier de cheval très abondant.

100 grammes de poudre au titre de 0,271 donnent 33 gr. 54 d'extrait contenant 0 gr. 807 d'alcaloïdes $\frac{0}{100}$.

Résumons maintenant toutes ces données dans un tableau récapitulatif qui fera mieux ressortir l'importance des divers facteurs.

Récapitulation des tableaux précédents.

COMPOSITION des terres	ALCALOÏDES pour 100 gr de Poudre	EXTRAIT pour 100 gr. de Poudre	ALCALOÏDES pour 100 gr. d'Extrait
	grammes	grammes	grammes
1 Limon d'argile pur, avec fumure (fumier de cheval).	0,41	23,20	1,775
2 Argile, terreau prove- nant des matières or- ganiques (fumier de cheval).	0,31	26,48	1,178
3 Terreau pur de matiè- res organiques, beau- coup de silice, fu- mure (fumier de mouton).	0,60	34,	1,778
4 Terreau matières or- ganiques, beaucoup de silice et fumure (fumier de cheval).	0,66	30,76	2,149
5 Terreau pur de matiè- res organiques (sans aucune fumure).	0,24	28,30	0,879
6 Terreau pur de matiè- res organiques mé- langé de terre de jar- din (fumier de cheval).	0,34	25,40	1,37
7 Très mauvaise terre de jardin avec fumier de cheval.	0,28	28,26	0,996
8 Terreau de feuilles pur, fumure peu abon- dante (fumier de vache).	0,40	32,50	1,247
9 Bois, sciures, très dé- composé, sans silice, avec abondance (fu- mier de vache).	0,30	31,76	0 98
10 Terreau de bois, sci- ures, bien décomposé, sans silice (fumier de che- val) très abondant.	0,27	33,54	0,807

CONCLUSIONS.

1° La méthode de dosage des alcaloïdes dans les feuilles de Belladone que nous avons employée dans nos essais donne des résultats comparables aux procédés de LÉGER et de CÆSAR et LORETZ modifiés. Elle est rapide, peu coûteuse et permet surtout d'évaluer le rendement en extrait d'une feuille de Belladone. C'est un procédé particulièrement intéressant pour l'industrie.

2° L'extrait de Belladone renferme, à côté des bases fixes (Atropine, Hyoscyamine), des alcaloïdes volatils, ce qui paraît prouvé par ce fait que dans les méthodes de dosage, si on dessèche ou non à 100° le résidu provenant de l'extraction des alcaloïdes, on obtient deux chiffres différents. Dans le premier cas (dessiccation à 100° pendant 1/2 heure-1 heure), on dose l'Atropine ; dans le second (reprise directe de la solution éthéro-chloroformique par l'acide titré, ou évaporation modérée pour chasser l' AzH^3), on dose l'Atropine et les bases volatiles.

Il serait important, pour la thérapeutique et pour les relations commerciales, d'adopter l'un ou l'autre des procédés. Nous pensons qu'au point de vue pharmacologique il faudrait adopter le second.

3° Les essais de culture montrent que :

a) : Les fumures augmentent considérablement le rendement en extrait et la teneur en alcaloïdes sans que pour cela il y ait parallélisme entre les deux augmentations. Les fumiers de cheval, de vache, de mouton ont à peu de chose près la même action.

b) : La terre fraîche argileuse ou le terreau additionné de silice donnent des plantes riches en alcaloïdes.

c) : Le terreau de bois additionné de fumier de cheval donne une Belladone riche en extrait mais pauvre en alcaloïdes. Comme ce terreau est riche en potasse, les expériences de VREVEN et SCHREIBER sur le rôle néfaste de cet élément chimique dans la culture de Belladone se trouve ainsi confirmées.

Nous croyons par l'examen des chiffres de ce tableau récapitulatif que l'altitude semble ne pas favoriser la production des alcaloïdes dans la plante.

Toutefois nous devons ajouter que l'année 1917 a été excessivement peu ensoleillée à Bagnères. Il ne nous est donc pas possible de savoir quel facteur, altitude ou soleil ? est intervenu pour ralentir ainsi la formation d'alcaloïdes. Les meilleurs rendements en extrait ont été fournis par les sols composés de terreau et fumier. Ce sont aussi ceux qui ont donné les végétaux les plus luxuriants, la feuille atteignant jusqu'à 0^m40 de longueur ; par contre, la teneur en alcaloïde était médiocre. Le terreau de sciure de bois, même avec la fumure, a donné le pourcentage le plus faible. Les meilleurs rendements en alcaloïdes ont été donnés par les terres franches argileuses, ou les terreaux additionnés de silice. Le terreau sans silice et sans fumier donne la Belladone la plus pauvre en alcaloïdes.

Vu. bon à imprimer :

Vu :

Le Président de la Thèse,
E. PERROT.

Le Directeur de l'Ecole,
H. GAUTIER.

Vu et permis d'imprimer :

Le Vice-Recteur de l'Académie de Paris,
L. POINCARÉ.

TABLE DES MATIERES.

	Pages
INTRODUCTION.....	5
PREMIÈRE PARTIE. — Procédés de dosage des alcaloïdes dans les feuilles de Belladone.....	11
DEUXIÈME PARTIE. — Procédés de dosage des alcaloïdes dans les extraits de Belladone.....	29
TROISIÈME PARTIE. — Variation des alcaloïdes dans les plantes de culture sous l'influence de différents facteurs.....	43
CONCLUSIONS.....	57

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE L. DECLUME, LONS-LE-SAUNIER.
